

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS



“VALORACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA PRUEBA DE
VIABILIDAD CON TETRAZOLIO EN SEMILLAS
DE PAPAYA (*Carica papaya L.*)”

MARTHA YOLANDA PÉREZ ESCALONA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

ZAPOPAN, JALISCO. ENERO DEL 2005.

Esta tesis titulada " VALORACIÓN DE LA EFICIENCIA DE LA PRUEBA DE VIABILIDAD CON TETRAZOLIO EN SEMILLAS DE PAPAYA (*Carica papaya* L.) " fue realizada bajo la dirección del consejo particular indicado ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRÍCOLA Y FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

TUTOR:


M. C. JOSÉ SÁNCHEZ MARTÍNEZ

ASESOR:


M. C. ADRIANA NATIVIDAD AVENDAÑO LÓPEZ

ASESOR:


M. C. JOSÉ PABLO TORRES MORÁN

ASESOR:


DR. ELÍAS SANDOVAL ISLAS

ASESOR:


DR. EDUARDO RODRÍGUEZ GUZMÁN

Las Agujas, Zapopan, Jalisco, Enero del 2005.

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a las siguientes personas, quienes me ayudaron en el largo camino de la investigación y realización de éste trabajo:

- * A Dios, que en cada etapa de mis sueños está guiándome y brindándome su apoyo y consejo.*
- * A mi Alma Mater: la Universidad de Guadalajara por extenderme la mano en mi superación y la realización de esta investigación.*
- * A mis padres María Yolanda Escalona Soria y Eunides Antonio Pérez Melgar, ya que son el más preciado galardón que me ha dado Dios y por ayudarme a crecer como ser humano y profesionista.*
- * A mi esposo José Manuel Rodríguez D. y mi hija, Adriana Yolanda, por su paciencia y brindarme su entusiasmo en aquellos momentos más difíciles de la carrera y realización de este trabajo.*
- * A mis maestros José Sánchez M., Adriana N. Avendaño L., y José Pablo Torres M. en la realización y apoyo de ésta investigación.*
- * Al maestro, Salvador Hurtado de la Peña, por sus finos consejos y apoyo incondicional.*
- * A Doctor Elías Sandoval Islas, por ser entusiasta en mi desarrollo como ser humano y profesionista*
- * A todos mis profesores de la maestría que se esforzaron en mi enseñanza y brindaron su apoyo incondicional y acertado en los momentos difíciles de mi ardua carrera.*
- * Al Doctor Benjamín Rodríguez-Garay por su apoyo incondicional.*
- * Al Ing. Martín Figueroa e Ing. Landeros, (SEDER) por brindarme su apoyo en el conocimiento e investigación de esta fruta tan valiosa como es la papaya y en mi superación personal.*

** A mis hermanos Dra. Edith Vanessa, Lic. Xóchitl, Ing. Paolo por brindarme ayuda y consuelo en cada escalón de mi vida.*

** A mis sobrinas Karla y Elizabeth por darme entusiasmo y apoyo en el futuro.*

** A mis amigas en especial a Alicia Medina Guevara y Eva Noemí Obledo Vázquez por sus consejos atinados y brindarme su apoyo.*

** A mis compañeros de estudio en la maestría por su apoyo y entusiasmo en cada momento de la carrera.*

** Ya todos aquellos que de alguna forma me brindaron su apoyo y amistad.*

Mil Gracias...

DEDICATORIAS:

*A mis padres, por ser mi apoyo, alegría, esperanza
y llenarme de amor hacia Dios y el futuro.*

*A mis abuelos †Juan Escalona. y Salud Soria., que aunque se encuentran muy lejos
los llevo en mis pensamientos, en cada etapa de mi vida,
ya son el símbolo de ternura y amor para mí.
Ya a todos mis tíos y primos a quienes les
exhorto seguir la senda de amor
y ejemplo que nos dejaron
nuestros abuelos.*

*A mi hija Adriana Yolanda, por sonreírme
y llenarme de amor y comprensión
y a mi bebé que aún no nace pero,
ya está en nuestros sueños. . .*

*A mi Esposo José Manuel, por brindarme su amor y apoyo incondicional
en cada momento de la realización de nuestra vida
su inagotable esfuerzo por mi superación y
su entusiasmo porque caminemos juntos
en la ardua labor de la ciencia.*

*y a todas las personas que aman y admiran a la Madre Naturaleza y
se esfuerzan por complementarla y llenarla de amor.
Ya aquél "Hombre que Plantaba Árboles.
Historia, pero que todos con un granito de arena
podemos hacer realidad. . .*

ÍNDICE

| | PÁGINA |
|--|--------|
| ÍNDICE CUADROS Y FIGURAS..... | ix |
| RESUMEN..... | x |
| ABSTRACT..... | xii |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 Características generales..... | 3 |
| 2.2 Características de las flores..... | 3 |
| 2.3 Clasificación botánica..... | 5 |
| 2.4 Origen de la papaya..... | 5 |
| 2.5 Importancia económica: la papaya en México y su problemática..... | 6 |
| 2.6 Aspectos importantes de la semilla de papaya..... | 9 |
| 2.7 Componentes químicos en la semilla de papaya..... | 12 |
| 2.8 Calidad de semilla..... | 13 |
| 2.9 Prueba de viabilidad con Tetrazolio; ventajas y Desventajas..... | 14 |
| 2.9.1 Preparación de la solución de Tetrazolio..... | 19 |
| 2.9.2 Aspectos importantes para realizar la interpretación en la prueba de viabilidad con Tetrazolio..... | 19 |
| 2.9.2.1 Semillas viables..... | 20 |
| 2.9.2.2. Semillas no viables..... | 20 |
| 2.10 Causas y factores que afectan la germinación de la papaya..... | 22 |

| | |
|--|-----------|
| 2.11 Latencia y quiescencia..... | 25 |
| 2.12 Principales causas del letargo en semillas..... | 27 |
| 2.13 Almacenamiento de semillas de papaya..... | 28 |
| 2.14 Semillas ortodoxas..... | 30 |
| 2.15 Semillas recalcitrantes..... | 30 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 32 |
| 3.1 Ubicación del área de estudio..... | 32 |
| 3.2 Material genético..... | 32 |
| 3.3 Material químico..... | 32 |
| 3.4 Establecimiento del experimento..... | 33 |
| 3.4.1 Análisis de composición química en semillas de papaya Amameyado y Maradol Roja..... | 33 |
| 3.4.2 Determinación del periodo de imbibición, concentraciones de Tetrazolio y temperaturas en semilla de papaya Amameyado y Maradol Roja..... | 33 |
| 3.4.3 Prueba de germinación estándar en semilla de papaya Amameyado y Maradol Roja..... | 35 |
| 3.5. Diseño Experimental..... | 37 |
| 3.6 Análisis Estadístico..... | 37 |
| 4.RESULTADOS y DISCUSIÓN..... | 38 |
| 4.1. Análisis de la composición química de las semillas de papaya Amameyado y Maradol Roja..... | 38 |

| | |
|--|----|
| 4.2 Análisis de la tabla de contingencia en variedades, temperaturas concentración y tiempos de imbibición..... | 40 |
| 4.3 Análisis de la prueba de germinación estándar en las dos variedades..... | 45 |
| 4.4 Análisis de la concordancia entre viabilidad y germinación en las dos variedades..... | 46 |
| 5. CONCLUSIONES..... | 48 |
| 6. LITERATURA CITADA..... | 49 |
| 7. ANEXOS..... | 53 |

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Página

CUADROS

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Clasificación botánica de la papaya..... | 5 |
| 2 | Tipos de semillas según su comportamiento durante el almacenaje..... | 31 |
| 3 | Cantidad requerida de Tetrazolio para preparar las soluciones..... | 32 |
| 4 | Tratamientos utilizados en la segunda etapa en los dos experimentos..... | 34 |
| 5 | Análisis de composición química de la semilla en papaya Amameyado y Maradol Roja..... | 38 |
| 6 | Efecto de la temperatura, concentración y tiempo de imbibición sobre la determinación de viabilidad en embriones de papaya Amameyado..... | 43 |
| 7 | Efecto de la temperatura, concentración y tiempo de imbibición sobre la determinación de viabilidad en embriones de papaya Maradol Roja..... | 44 |
| 8 | Prueba de germinación estándar en semillas de papaya Amameyado y Maradol Roja..... | 46 |
| 9 | Concordancia entre viabilidad y germinación en variedades Amameyado y Maradol..... | 47 |

FIGURAS

| | | |
|---|---|----|
| 1 | Diagrama de un corte transversal de la semilla madura de <i>Carica papaya</i> L..... | 10 |
| 2 | Estructura del embrión <i>Carica papaya</i> L..... | 10 |

RESUMEN

La prueba de Tetrazolio es utilizada para determinar la viabilidad en forma rápida en un análisis de calidad en semillas, evitando mermas en la producción al usar semillas de dudosa procedencia.

El presente trabajo tuvo como objeto la evaluación de la eficiencia de esta prueba en semillas de papaya y se dividió en dos experimentos: en el primero se utilizó semilla de variedad Amameyado y en el segundo variedad Maradol Roja, realizándose en tres etapas: **primera etapa**, prueba de composición química de la semilla, determinando: humedad, proteínas y grasas. **Segunda etapa** se midieron los efectos de las variables: tiempo de imbibición a 6, 8, 10 y 12 horas, concentraciones de Tetrazolio a 0.5, 1.0 1.5 y 2.0% y temperaturas de 35°C y 43°C. Sobre la coloración de las semillas de papaya en la prueba de viabilidad ayudó a constatar la presencia de vida en los embriones al apreciar el color rojo (formazán) que se formó al entrar en contacto con el Tetrazolio. **Tercera etapa**, consistió en realizar la prueba de germinación estándar entre papel. Se comparó concordancia entre viabilidad y germinación.

En cuanto a los resultados del análisis de composición química en las dos variedades: el porcentaje de humedad en Amameyado fue 1.10%, de proteínas 26.40% y de grasas 32.45%, a diferencia de la variedad Maradol con 6.89% de humedad, 23.94% de proteínas y 21% de grasas.

En la segunda etapa en el experimento I el mejor tratamiento es con una temperatura de 35°C una concentración de 1.5% a un tiempo de imbibición de 10 horas reflejando 12% de viabilidad.

En el experimento II el mejor tratamiento es a una temperatura de 35°C con una concentración de 1.0 y un tiempo de imbibición de 10 horas reflejando 31% de viabilidad

En los dos experimentos se encontró una concordancia entre la prueba de viabilidad y germinación dentro de los límites normales establecidos para su realización.

Por lo que se concluye que la eficiencia de la prueba de viabilidad en *Carica papaya* L. está en función de la variedad, composición química, porcentaje de humedad y nivel de deterioro de la semilla. Y para realizar la prueba de viabilidad en la variedad Amameyado es necesario exponer los embriones a una concentración de Tetrazolio de 1.5% y para la variedad Maradol se debe utilizar una concentración de 1.0%, en ambos casos es necesario imbibir durante 10 horas a una temperatura de 35°C. Se encontró concordancia entre el porcentaje de germinación y el porcentaje de viabilidad.

Palabras claves: papaya, Tetrazolio, germinación, viabilidad, deterioro, tiempos de imbibición

ABSTRACT

The Tetrazolium (TZ) test is used to determine viability in a fast way for the analysis of seed quality. This avoid decreases on production, due to the use of seeds from doubtful origin.

The aim of this work was the evaluation of efficiency of the Tetrazolium viability test on papaya seeds and was divided into two experiments: seeds of variety 'Amameyado' were utilized on the first one, whereas seeds of variety 'Maradol Rojo' were utilized on the second one. Both of the experiments were carried out in three phases: on the first phase, a chemical composition test was carried out, determining: humidity, proteins, and lipids. On the second phase, the effects of the variables: imbibition time (6, 8, 10 and 12 hrs), concentrations of Tetrazolium (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0%) and temperatures (35°C and 43°C) were measured according to the coloration degree of papaya seeds on the viability test where the colorless Tetrazolium salt solution, changed into red formazan distinguishing between viable and dead tissues of the embryos. The third phase consisted of the test of standard germination between paper. The correlation between viability and germination was evaluated.

Results on the first phase: the variety 'Amameyado' showed 1.10% of humidity, 26.40% of proteins, and 32.45% of lipids, compared to the variety 'Maradol Rojo' which showed 6.89% of humidity, 23.94% of proteins and 21% of lipids.

On the second phase of the experiment I the best results were observed at 35°C with 10 hours of imbibition and a concentration of 1.5% of Tetrazolium, which registered 12% of embryos viability.

On the experiment II the best results were observed at 35°C with 10 hours of imbibition and a concentration of 1.0% of Tetrazolium, which registered 31% of embryos viability.

In both experiments, a correlation between the Tetrazolium viability and germination tests was found inside the normal limits established for its execution.

On the basis of these results, it is concluded that the application of the Tetrazolium test on *Carica papaya* seeds is in function of the variety, chemical composition, percentage of humidity and level of deterioration of the seed. To determine the viability for variety 'Amameyado' is necessary to expose the embryos at 35°C with 10 hours of imbibition and a concentration of 1.5% of Tetrazolium.

On the other hand, in the variety 'Maradol Rojo', is necessary to expose the embryos at 35°C with 10 hours of imbibition and a concentration of 1.0% of Tetrazolium to determine the viability, a correlation between the Tetrazolium viability and standard germination tests was found on papaya seeds.

Key words: papaya, Tetrazolium, germination, viability, deterioration, imbibition times.

I. INTRODUCCIÓN

Para obtener exitosas cosechas y beneficios, es necesario tener un cuidado especial en la producción, iniciando con semilla de calidad. Uno de los componentes de calidad que no se debe descuidar es el fisiológico, ya que es aquí donde se centra el mayor riesgo para que permanezcan las semillas viables y por tiempo prolongado.

Oficialmente no se cuenta con información para el análisis fisiológico en semillas de papaya tanto para germinación y viabilidad con Tetrazolio, las cuales, son indispensables para el comercio de semillas, y hace necesario probar y establecer pruebas de laboratorio que sean reconocidas en el sector oficial y organismos internacionales, como son: la Asociación Internacional de Análisis de Semilla (ISTA) y la Asociación de Agencias Oficiales de Certificación de Semilla (AOSCA). Por lo que el presente estudio propone analizar la factibilidad de la utilización de la prueba de Tetrazolio, estableciendo una metodología apropiada para esta especie.

México, se sitúa entre los mayores productores y exportadores de papaya en el ámbito internacional, pero esto se puede ver afectado al carecer de producción nacional de semilla, que reúna las condiciones necesarias de confiabilidad en estándares de calidad y ofrecer mejor precio, y debido a esta carencia, es necesario el tener que recurrir a la semilla comercial certificada de procedencia extranjera (cubana) con un costo aproximado de \$ 210 (dólares), 100 grs. de semilla certificada /ha la que se requiere, con estándares de calidad de 99% de semilla pura, lo cual es factor de gran importancia para el establecimiento de la plantación (Abreu y Matheis, 2000).

Por lo que la complejidad de la producción de semilla de papaya, requiere implementar y utilizar pruebas confiables que avalen la calidad de la misma, entre ellas la de Tetrazolio, ya que es una prueba rápida y reconocida en otros cultivos, como un medio seguro para estimar la viabilidad de semillas (Copeland y McDonald, 2004). Por otra parte, sirve para conocer la condición biológica de la semilla en forma rápida, determinar la viabilidad de las llamadas semillas latentes que es el caso de la semilla de papaya y además poder conocer el grado de deterioro que pueda tener la semilla al ser almacenada bajo determinadas condiciones, por lo que esta prueba definirá el estado de la semilla sin hacerla germinar, ahorrando tiempo y costos, así el ensayo topográfico de Tetrazolio resultaría ser un método conveniente para determinar la condición de la semilla de papaya.

Los objetivos de esta investigación fueron:

Objetivo general:

Analizar la factibilidad de la utilización de la prueba de Tetrazolio, estableciendo una metodología apropiada para esta especie:

1. Valorar la eficiencia de la prueba de viabilidad con Tetrazolio en semillas de papaya.
2. Definir la mejor combinación y nivel óptimo de los diferentes elementos que intervienen en la prueba de viabilidad de la semilla de papaya.
3. Estimar el nivel de concordancia entre la viabilidad y la germinación de las variedades:

Amameyado y Maradol Rojo.

Hipótesis: El más alto nivel de concordancia entre el porcentaje de viabilidad y germinación puede ser determinado mediante el estudio y observación de la interacción entre los elementos que participan en la prueba hasta lograr la mejor combinación y nivel óptimo de estos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Características generales

La papaya ($2n = 18$) es una planta herbácea arborescente, de rápido crecimiento, y vida corta. El tronco es recto cilíndrico, suave, esponjoso fibroso, hueco, de color gris o café grisáceo, de 10 – 30 cm de diámetro. Está compuesto por un tejido carnosos, el cual se va endureciendo conforme a su crecimiento, siendo una manifestación propia las cicatrices que van dejando los pecíolos al desprenderse.

El follaje esta constituido por una corona compacta de hojas grandes en la parte terminal del tallo, los pecíolos son largos pudiendo alcanzar 70 centímetros de longitud, las hojas nuevas se desarrollan continuamente y las viejas se secan y se caen¹.

López (1990) menciona que las hojas son alternas palmatilobuladas, largamente pecioladas, estipuladas. Tronco con follaje terminal.

2.2 Características de las flores

Rodríguez (2000) menciona que en el cultivo de la papaya los problemas de polinización, amarre de frutos y rendimientos están directamente relacionados con la expresión sexual de las plantas bajo cultivo. Nakasone (1986, citado por Rodríguez, 2000) mencionó que en la papaya hay básicamente tres tipos sexuales de flores: flores pistiladas (hembra), flores estaminadas (macho) y flores hermafroditas.

Flor pistilada: según Ochse *et al.* (1980, citado por Rodríguez, 2000) las flores femeninas son solitarias o se encuentran en racimos de pocas flores, 3.5 a 5 cm de largo y de 4 a 6 cm de

¹ www.semilladelcaribe.com.mx

diámetro, con el raquis corto, grueso, corola gamopétala, estigma sésil con 5 lóbulos cuya base es en forma de tallo y el ápice muy dilatado, palmeado o pectinado, papiloso.

Según Nakasone (1986, citado por Rodríguez, 2000), comenta que la flor carece de estambres, y es de tipo estable, ya que su expresión sexual no es modificada por el medio ambiente. Presenta ovario globoso A 5 – 10 en 2 series dítecos dehiscencia longitudinal con pistilo rudimentario, placentación parietal polispermo, fruto en baya.

Por otra parte otro aspecto importante lo describe Pohlan *et al.* (2001) al comentar que la papaya se inicia comúnmente con la selección de la semilla, para ello es importante conocer el origen de los frutos o de los árboles ya que es importante entre otras cosas, obtener el mayor número de plantas hermafroditas y esto se puede predecir con cierta exactitud a través de las flores.

Además su floración por lo general inicia al mes y medio después del transplante, cuando la planta tiene de 35 a 40 centímetros de altura y continúa su floración y fructificación durante todo el ciclo vegetativo de la planta, amarrando de 80 a 90 flores en promedio, comercialmente se llega a cosechar en ocasiones arriba de 50 frutos por planta, dependiendo de las condiciones particulares y el manejo de cada huerta, la cosecha se continúa hasta que finaliza el ciclo del cultivo, además se han encontrado referencias de que una planta puede producir la fruta por más de 20 años ¹

¹ www.semilladelcaribe.com.mx

2.3 Clasificación botánica

La clasificación de la papaya se puede describir de la siguiente forma (cuadro 1):

Cuadro 1. Clasificación botánica de la papaya.

| REINO VEGETAL | |
|---------------|---------------|
| Tronco | Cormofita |
| División | Antofita |
| Subdivisión | Angiosperma |
| Clase | Dicotiledónea |
| Subclase | Chrisopetala |
| Orden | Parietales |
| Familia | Caricaceae |
| Género | <i>Carica</i> |

La familia Caricacea solamente incluye cuatro géneros, tres de los cuales son de América tropical (*Carica*, *Jacaratia* y *Jarilla*) y uno de África ecuatorial (*Cylicomorpha*)¹

Morales (1999, citado por Pohlen *et al.* 2001), menciona que existen especies de papaya como son: *Carica cauliflora* Jacq. (Oreja de Mico), *C. peltata* (papaya del monte), *C. pubescens* (papayuela), *C. chilensis* y *C. goudotiana*.

2.4 Origen de la papaya

La primera mención escrita acerca de la papaya está en "Historia natural y general de las Indias, de Oviedo", quien en 1535, en una carta a su Rey le describía que la había visto crecer en el sur de México y Centroamérica. Alonso de Valverde llevó semillas a lo que hoy se conoce como Panamá y República Dominicana, donde los nativos la denominaban "papaya". Durante el inicio de la conquista, la papaya se distribuyó por todas las Antillas y Sudamérica.

¹ www.semilladelcaribe.com.mx

A fines del siglo XIV y a principios del siglo XV, su cultivo se difundió en Filipinas, Malasia, sur de China, Ceilán y Hawái, ya que los navegantes españoles y portugueses llevaban el fruto y sus semillas (Quer, 1978; Neumann, 2001).

Lötschert y Beese (1983, citado por Gutiérrez – Mora, 2002) agregan que la papaya (*Carica papaya* L.) es originaria de América Central, del sur de México y fue cultivada en esta región y en Brasil hasta antes de que Cristóbal Colón llegara a colonizar América.

2.5 Importancia económica: la papaya en México y su problemática.

Sintes (1974) agrega que la papaína sirve para clarificar la cerveza, el jugo de la papaya está indicado en la cura de las afecciones cutáneas, especialmente en el tratamiento de las enrojecimientos faciales, es vermífugo, cura la difteria, es usado para curar callos, además, las semillas tienen propiedades, antihelmínticas, mascando 10 ó 12 semillas frescas se curan las enfermedades del hígado y se facilita la buena secreción de la bilis. Las hojas, en una infusión ayudan a curar la dispepsia atónica y afecciones cardíacas.

La papaya generalmente se consume como fruta fresca, ya que su pulpa es utilizada como alimento para consumo en fresco o en dulces y también, se le atribuyen usos medicinales y cosmetológicos, así como para la obtención de la enzima papaína.

En el ámbito nacional, el cultivo de papaya es de importancia económica, ya que en los últimos 20 años ha estado entre los diez primeros frutales tropicales, tanto en superficie como en volumen (Gutiérrez – Mora, 2002).

Rodríguez, (2000 citado por Mota, 2002) argumenta que el papayo a pesar de considerarse un cultivo tradicional de gran importancia, se ha investigado poco en nuestro país. La escasa información que existe proviene de ensayos aislados efectuados por pequeños productores que son asesorados por empresas privadas, o alguna institución de enseñanza e investigación

y cuyo interés es el de producir su propia materia prima.

Es importante mencionar que en México existen grandes superficies cultivadas con este frutal, ya que atrae fuertemente la atención de los productores debido a su gran demanda en el mercado nacional y por el corto periodo en el cual alcanza su etapa productiva. Entre los principales Estados productores se encuentran: Michoacán, Oaxaca, Jalisco, Nayarit, Veracruz, Yucatán y Chiapas, aunque se cultiva en 22 de los 32 Estados de la República (Chao y Mora, 2000).

Rodríguez (2000) comenta que Veracruz, es el principal productor de papaya en el país y su cultivo se desarrolla en 49 municipios del estado.

Con respecto a la producción, según la FAO, desde 1981, México ocupó el segundo lugar en la producción mundial de papaya después de Brasil, con 322 mil toneladas, lo que manifiesta la gran importancia que tiene este cultivo en la economía y la alimentación nacional. En 1990, México fue el primer exportador de esta fruta a los EUA, con 2,958 Ton. Y para 1991, continuaba ocupando el segundo lugar mundial como productor de papaya con una producción de 660 mil toneladas. Por lo que, en 1998 dominó el mercado de Estados Unidos con más de un 83%.

Para el 2000, México se desplaza al tercer lugar a nivel mundial de producción de papaya con 498,000 toneladas métricas, en área cosechada ocupa el quinto puesto con 17,500 hectáreas y es el primer lugar como país exportador de fruta con 59,638 toneladas métricas. (Chao y Mora, 2000).

Si bien México, es considerado como uno de los centros de origen de la papaya, durante la década de los setenta llegó a nuestro país la variedad Maradol Roja y en el año 1991 se sembró la primera huerta comercial en el estado de Chiapas, con un total de 20 hectáreas.

Esta variedad ha sido la principal promotora de este cultivo en nuestro país, gracias principalmente a su tamaño intermedio, pulpa rojo salmón y excelente vida de anaquel. En el año 1998 el cultivo de papaya Maradol representó 10,000 hectáreas (57% de la siembra total del cultivo), teniendo un incremento notable año tras año. (Chagolla, 1984; Chao y Mora, 2000; Mota, 2002).

Es por esto que el incremento en la demanda, tanto en el consumo nacional como en el internacional, el cultivo de la papaya se vislumbra con altas expectativas y una excelente rentabilidad para el productor en México, debido a que en general se puede cultivar todo el año. Además se debe considerar que si bien es un cultivo que requiere una inversión alta, su gran rentabilidad es muy atractiva para el empresario agrícola de nuestro país¹ Según Acosta (1998, citado por Rodríguez, 2000), menciona que el cultivo de este frutal enfrenta varios problemas como son:

1. Carencia de material genético nacional seleccionado.
2. Dificultad de identificar los sexos en estados tempranos de desarrollo.
3. Inestabilidad de la expresión sexual en las plantas hermafroditas.
4. Desconocimiento de los agentes polinizantes y la biología floral de la especie.
5. Presencia de plagas y enfermedades, de las cuales la más importante es la provocada por la mancha anular del papayo.
6. Caída excesiva de flores y escaso amarre de frutos.
7. Producción estacional, concentrada en determinadas épocas.

¹ www.semilladelcaribe.com.mx

8. Comercialización indirecta por la mayoría de los productores (intermediarismo).
9. Manejo postcosecha inadecuado.

2.6 Aspectos importantes de la semilla de papaya.

Lassoudière (1968) refiere en cuanto a las características de su estructura, que el ovario es súpero y contiene un gran número de óvulos anatópicos, bitegumentados. Dentro de los primeros estadios, los núcleos y el citoplasma están concentrados dentro de la zona periférica del saco embrionario. Las regiones del micrópilo y de la chalaza son más densas. La formación de los tabiques es centripétala y comienza solamente cuando los semillas están bien formados. Las células (endospermo) se dividen de una manera periclinal y se forman de los rangos de células regularmente dispuestas.

El endospermo es persistente y sirve de reserva. El embrión se desarrolla muy lento y en el extremo de la radícula, este suspensor persiste dentro del embrión maduro, y los jóvenes cigotos se orientan de cualquier manera dentro del saco embrionario.

Moreno (1980) comenta que las semillas son numerosas, con superficie externa mucilaginosa (sarcotesta) sobre una superficie interna endurecida (endotesta), endospermo abundante y el embrión recto (figura 1).

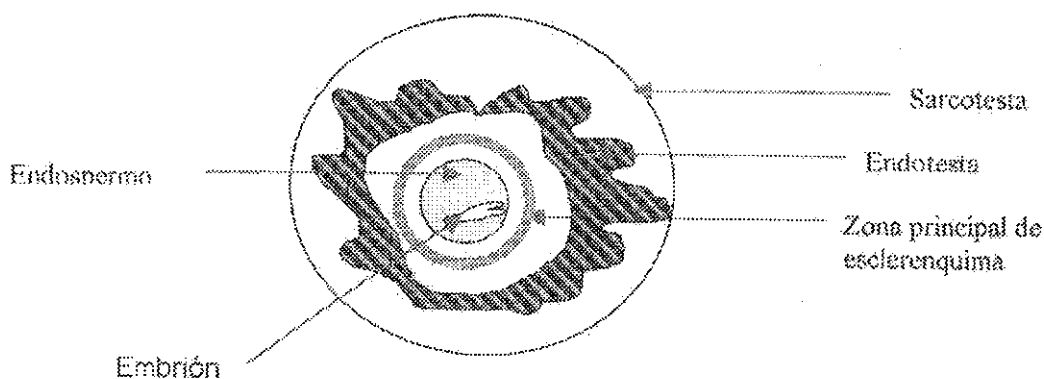


Fig.1. Diagrama de un corte transversal de la semilla madura de *Carica papaya* (Lassoudiere, 1968).

Conzatti y Smith (1981) señalan que la papaya presenta semillas ovoideas, de arilo adherente y testa crustácea envueltas en una sustancia mucilaginosa, un embrión recto y plano, de cotiledones foliáceos, situados en el centro del perispermo carnososo (figura 2).

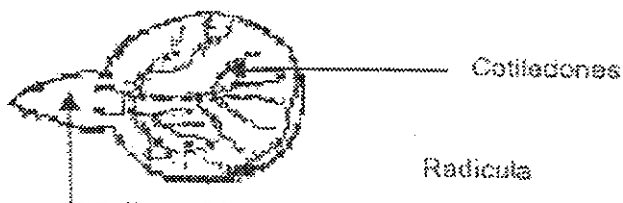


Fig. 2. Estructura del embrión de *Carica papaya*. Singh, (1990 citado por Mota, 2002)

Por otra parte López (1990) agrega, la semilla es de embrión recto y endospermo succulento. Placentación parietal polispermo.

Samson, (1991) refiere que se conoce que en el fruto de la papaya alrededor del lóculo se depositan mil o más semillas negras y además existen frutos sin semillas.

Andreoli y Khan (1993) comentan que la semilla se encuentra encerrada en una sarcotesta gelatinosa (arilo o cubierta exterior), la cual se forma del integumento exterior.

Díaz-Luna y Lomelí-Sención (1997) mencionan que la familia Caricaceae son semillas ovoides, elipsoides o subglobosas, endospermo carnoso, testa lisa, rugosa o equinada con sarcotesta jugosa.

Pohlan *et al.* (2001) mencionan que las semillas están adheridas y alineadas en surcos de las paredes del ovario, miden entre unos cinco a siete milímetros de diámetro.

Mota (2002) y Gutiérrez – Mora (2002) comentan que las semillas son pardas o negras, esféricas u ovoides, oscuras, de superficie rugosa revestida de una sarcotesta o arilo transparente, blanquecino subácido y la sarcotesta al ser expuesta a la atmósfera, pierde agua rápido y en última instancia se desintegra. Además, la superficie de la semilla (esclerotesta) es de color oscuro y tiene una superficie externa áspera, está formada de tubérculos cónicos en filas y los cotiledones están bien desarrollados de forma ovoides – oblongos, aplanados y de color blanco.

Por otra parte Muñoz *et al.* (1983) comenta un argumento empleado por el Ministerio de la Agricultura, de Cuba de la Dirección Nacional de Cítricos y Frutales, (1979) que señalan que la propagación agámica se emplea cuando se desea conservar todos los caracteres de una variedad determinada, pero en la fruta bomba (papaya) esto no es posible porque la planta obtenida por esta vía resulta tan variable en sus caracteres sexuales, así como en las formas de las frutas, como pudiera serlo una planta de semilla, anulando entonces la finalidad de este método de multiplicación.

Mota (2002) comenta que la siembra comercial de papaya se debe realizar por semilla ya que, la reproducción vegetativa aun cuando es muy deseable, no es práctica.

2.7 Componentes químicos en la semilla de papaya

Según Taiz y Zeiger (1998 citado por Obledo, 2002), para la formación del embrión cigótico se pasa por tres procesos básicos de desarrollo: división celular, expansión celular y diferenciación celular. Al final del desarrollo del embrión, éste contendrá alimento de reserva del cual se alimentará el embrión antes de ser capaz de realizar la fotosíntesis. El alimento de reserva más distribuido en las semillas es el almidón, el cual puede fraccionarse en amilasa y amilopectina; el almidón de la mayoría de las especies está conformado de 30% de amilasa y 70% de amilopectina.

El almidón almacenado se encuentra en el parénquima de células de corteza, tejidos vasculares de tallo y raíces, el parénquima de las hojas, rizomas, tubérculos, frutos y cotiledones así como en el endospermo de semillas.

Otros alimentos de reserva que se encuentran en el endospermo son las proteínas, aceites, grasas y ceras. Las proteínas se almacenan como cuerpos sólidos o granos de aleurona, en frutos y semillas de muchas especies como la Fabáceas y Poáceas. Las grasas y los aceites se almacenan en forma de lípidos como gotas de aceite.

Según, Alemanno y col. (1997 citado por Obledo, 2002) comentan que en cacao se comprobó que la diferencia en las reservas de alimento estaba relacionada con el porcentaje de germinación y de sobrevivencia de los embriones.

Besnier (1989) comenta que otro componente químico es la proteína y en la papaya es alto lo cual constituye el principal componente de las semillas que contienen coloides que absorben agua; también lo hacen los mucílagos y las sustancias pépticas; por el contrario, el almidón no interviene en este proceso, ya que, sólo absorbe agua en condiciones ácidas y con tratamiento a temperaturas altas. Por lo que a mayor contenido de proteínas, el embrión absorbe mayor

cantidad de agua, proporcionalmente que el endospermo rico en almidón.

Bernal – Lugo (2001) comenta con respecto a las alteraciones en la composición de las reservas, que existen evidencia de que en las semillas oleaginosas (papaya) y los cereales, la acidez aumenta como consecuencia del envejecimiento. Aparentemente, esto es reflejo de la constante producción de ácidos grasos libres por actividad lipolítica, hidrólisis de fitina y proteólisis dentro de las semillas secas. El envejecimiento puede provocar entrecruzamiento de proteínas, que aunado a la actividad proteolítica puede ser factor importante en el daño a diversas enzimas; por lo tanto, no es extraño que haya evidencia que correlacione la pérdida de viabilidad con una disminución en actividad enzimática.

Por otra parte Obledo (2002) confirmó en el embrión de papaya, la ausencia de almidón en los cotiledones, radícula, endospermo.

2.8 Calidad de las semillas

Coelho (2001) refiere que la necesidad de determinar la calidad en semillas, surgió en Europa, como consecuencia de problemas constatados en la comercialización. De esta forma, en 1869, fue creado en Alemania el primer laboratorio de semillas y en 1876, fue publicado el primer Manual de Análisis de Semillas. Además, argumenta que la principal finalidad del análisis de semillas, es determinar la calidad del lote de semillas y, consecuentemente su valor para la siembra. El análisis es caracterizado por el examen minucioso y crítico de una muestra, con el objetivo de evaluar su calidad.

Los resultados son utilizados para la emisión de etiquetas; que acompañan al embalaje de semillas, para la fiscalización del comercio y la normatividad en la producción, a fin de establecer las bases para el beneficio, la comercialización, el almacenamiento y la distribución

de la semilla. Por lo que el análisis, también es utilizado para trabajos de investigación y en la identificación de problemas de calidad y determinación de las causas.

Adquirir semilla de mala procedencia y calidad asegura un total fracaso en la producción, sin embargo la calidad de la semilla se puede asegurar por medio de un proceso de normatividad para conseguir un éxito total.

Para evitar errores de apreciación en laboratorios, Bülow (2002) comenta que laboratorios de análisis de semillas de todo el mundo han trabajado ya desde hace décadas siguiendo los métodos estandarizados, por la Asociación Oficial de Análisis de semilla (AOSA), y tradicionalmente participan de una serie de análisis, mediante los cuales una misma muestra es analizada por varios laboratorios y emiten boletines con los mismos resultados. Además sugiere que sólo los analistas que han sido debidamente entrenados deberán emplearse para cada uno de los análisis.

2.9 Prueba de viabilidad con Tetrazolio; ventajas y desventajas:

Por lo que respecta a distinguir semillas viables, Peretti (1994) comenta que la sal de Tetrazolio soluble en agua e incolora, es absorbida por las semillas; y el compuesto rojo (formazán) es insoluble en agua, estable y no difusible, que permanece en las células donde se formó. Por lo tanto, el uso de esta sustancia permite distinguir células vivas del embrión que se colorean de rojo, de las células muertas que permanecen incoloras y de las células que respiran débilmente o enfermas, que se colorean de rosado.

Respecto a otras semillas donde se ha utilizando la prueba de Tetrazolio Costa *et al.* (1998) argumentan que la evaluación de la calidad fisiológica de semillas de soya, por medio de la prueba de Tetrazolio, ha proporcionado, en los últimos años contribución altamente significativa en la evaluación del vigor y viabilidad, fundamentales para el control de calidad de

semillas en Brasil. Además en otros cultivos como son: maíz y frijol, es ampliamente utilizada como una prueba rápida y confiable en programas para la evaluación de la calidad fisiológica de un lote de semillas.

Steiner *et al.* (1999) agregan que en la prueba de viabilidad con Tetrazolio, la viabilidad se define como "semillas viables y están relacionadas a aquellas que son capaces de producir plántulas normales en una prueba de germinación bajo condiciones favorables, después que ha perdido la latencia. Además afirma que el porcentaje de germinación no incluye la proporción de semillas con latencia y la proporción de las cuales desarrollaron plántulas enfermas o anormales, ambas de esas proporciones son, sin embargo, incluidas en el porcentaje de semillas viables, puesto que, no es posible diferenciarlas en base de una evaluación de su patrón de coloración (Lakon, 1918, 1952; Grabe, 1970; Steiner y Fuchs, 1981; Moore, 1985).

Coelho (2001) comenta que la prueba de Tetrazolio es muy utilizada en la comercialización y no debe ser considerado un sustituto de la prueba de germinación, ya que sus resultados no caracterizan anormalidades y otros disturbios de las plántulas, así como de la presencia de microorganismos y la latencia de semillas.

Lemos (2001) refiere que ante la demora de los análisis tradicionales de germinación, se recomienda recurrir a las pruebas complementarias, confiables, reproducibles y rápidas que permitan la agilidad en la evaluación de la calidad de las semillas y tomar decisiones anticipadas, disminuyendo los riesgos y perjuicios. Es así que, la prueba de Tetrazolio es rápida y de gran importancia para la evaluación de la calidad de las semillas, porque además de determinar la viabilidad, puede informar sobre el vigor e inclusive sobre otros problemas que afecten el desempeño de las semillas.

Además, Delouche (2002) argumenta que el descubrimiento y la aplicación de la reacción de Tetrazolio, fue fundamental para nuestra comprensión del proceso de deterioro en las semillas y de su relación con la germinación y el vigor. Daños fisiológicos y necrosis en las semillas, eran mostrados nítidamente en patrones de rojo y blanco y quedaban claramente evidentes los patrones y la naturaleza progresiva del deterioro.

McDonald (2002) comenta que las especies nativas no domesticadas poseen altos niveles de latencia en la semilla y para una mayor confiabilidad en la calidad de semillas de estas especies propuso que se realizara una prueba de Tetrazolio para identificar la viabilidad seguido por una prueba de germinación para determinar el potencial máximo en el lote de semillas.

Copeland y McDonald (2004), refieren que la prueba de Tetrazolio está ampliamente reconocida como un medio seguro para estimar la viabilidad de semillas, este método fue desarrollado en la Universidad de Hohenheim en Alemania a principios de la década de los cuarentas por el profesor Georg Lakon (1928) quien había estado tratando de distinguir entre semillas vivas y muertas exponiéndolas a sales de selenio. El entonces trató la sal de Tetrazolio y la encontró más efectiva.

Hoy en día esta prueba es utilizada en todo el mundo como un método altamente respetado en la estimación de la viabilidad de semillas y es la prueba de rutina en muchos laboratorios de análisis de semillas. Es a menudo referida como una prueba rápida, puesto que puede completarse en solamente unas pocas horas (comparada a las pruebas de germinación regular que requieren hasta dos meses para algunas especies).

Los resultados de la prueba de Tetrazolio pueden ser extremadamente valiosos en proveer información para el envío inmediato de lotes de semillas, sin tener que hacer pruebas de

germinación. Es también una técnica de investigación valiosa para determinar las razones para una pobre germinación. Además, comentan que la prueba de Tetrazolio permite la identificación de síntomas de debilidad en la semilla causada por condiciones ambientales adversas (daño por la intemperie), daño por chinches de jardín, lesión y daño debido a calentamiento durante el proceso de secado. Consecuentemente, los programas de control de calidad incluyen el uso de la prueba de Tetrazolio para evaluaciones de calidad fisiológica de semillas durante los estados de producción desde la precosecha hasta el proceso y para identificar problemas que causen fallas en el establecimiento de las plántulas.

En cuanto a la reacción de la prueba de Tetrazolio Copeland y McDonald (2004) argumentan que la prueba determina entre tejido vivo y muerto en el embrión, esto se basa en la reacción que presenta en el proceso, al momento del hidratado.

Aunque muchas enzimas están activas durante la respiración, la prueba utiliza la actividad de las enzimas deshidrogenasas como un índice durante el proceso de respiración y viabilidad de las semillas. Las enzimas deshidrogenasas reaccionan con substratos y liberan iones hidrógeno a la solución de sal de Tetrazolio incolora y oxidada, la cual se cambia a formazán rojo, esto cuando es reducida por los iones hidrógeno y se puede interpretar la viabilidad de las semillas de acuerdo al patrón topográfico del embrión y la intensidad de la coloración.

Por lo que también se hace necesario que se incluyan otras especies avaladas oficialmente por la Asociación Internacional de Análisis de semilla (ISTA) para que se establezca el uso de la prueba de Tetrazolio. Al respecto Alzugaray *et al.* 2003 sugieren que en especies como el quebracho colorado y blanco de gran importancia en la reforestación en Argentina, permitiera evaluar la manifestación de los daños ambientales y los provocados por patógenos en estas.

Por otra parte Zorato (2001) afirma que la prueba de Tetrazolio modificada, por la Asociación Nacional de Productores de Semillas de Mato Grosso (APROSMAT), está siendo rutinariamente empleada en varias etapas del proceso productivo y la interpretación diferenciada, para diagnosticar y supervisar la calidad de los lotes de semilla de soya y está siendo utilizada de forma continua, desde el momento de la pre – cosecha hasta la distribución para su siembra, e indica que ya cuentan con una mayor seguridad en el descarte o aprobación de los lotes de soya.

En cuanto a las ventajas y desventajas de la prueba de Tetrazolio, Copeland y McDonald (2004) comentan:

Ventajas:

- La rapidez con que se realiza la prueba es la ventaja mas obvia y puede justificar su uso cuando la rapidez es importante.
- Otra ventaja es su utilidad tanto en semillas con latencia como en semillas sin latencia, aunque la no detección de la latencia, algunas veces se cita como una desventaja.
- Actualmente, cuando se utiliza en combinación con una prueba de germinación, puede ser útil para probar la latencia de la semilla. La prueba de germinación nos dice el porcentaje de la germinación inmediata; la prueba de Tetrazolio nos dice el porcentaje de semilla viva; y la diferencia entre las pruebas de Tetrazolio y germinación representa el porcentaje de latencia en la semilla.

Desventajas:

- Quizás la más grande desventaja de la prueba de Tetrazolio es su dificultad y la experiencia requerida para interpretarla correctamente.

- Otra desventaja ha sido la carencia de aceptación de los resultados de la prueba de Tetrazolio por las agencias de ejecución de leyes, el comercio de semillas, y las agencias de certificación; sin embargo, este prejuicio está gradualmente desapareciendo conforme los procedimientos de la prueba de Tetrazolio se han estandarizado y más analistas están entrenándose para usarlos.

2.9.1 Preparación de la solución de Tetrazolio:

La solución de Tetrazolio (TZ) se prepara en agua destilada; se usan generalmente soluciones al 0.1 y 1.0% las cuales se hacen diluyendo 1 y 10 gramos de sal aforando hasta completar un litro de agua destilada respectivamente. El pH de las soluciones deberá estar entre 6.5 - 7.5 para obtener buenos resultados. Las soluciones deberán guardarse en la oscuridad o en botellas de color ambar para protegerlas de la luz. Las soluciones pueden guardarse por varios meses a temperatura ambiente. Se desecha la solución que haya sido empleada en una prueba (Pérez – Escalona, 1997).

2.9.2 Aspectos importantes para la interpretación en la prueba de viabilidad con Tetrazolio:

Besnier (1989) recomienda para una adecuada interpretación los siguientes puntos:

- Los embriones dañados mecánicamente, por el calor, por el frío o por dosis excesivas de fumigantes pueden colorearse normalmente o con una intensidad mayor que la normal.
- Las zonas de división celular en el proceso de germinación deben estar intactas en las semillas viables y colorearse normalmente; la falta de coloración de estas zonas indica falta de viabilidad o incapacidad de desarrollar plántulas normales.

Peretti (1994) refiere que la viabilidad de cada semilla se determina por comparación de su coloración con un patrón de tinción, considerando los siguientes aspectos:

- Tamaño de la región coloreada
- Intensidad de la coloración
- Presencia o ausencia de manchas irregularmente distribuidas

El criterio general para evaluar la viabilidad de las semillas es:

2.9.2.1 Semillas viables:

- Embrión completamente teñido de rojo.
- Embrión teñido de rojo a excepción de la porción terminal de la radícula (no más de 1/3 medido desde el extremo radicular).
- Embrión teñido de rojo, con pequeñas áreas sin teñir sobre los cotiledones (menos de la mitad de los cotiledones sin colorear).
- Embrión coloreado, exceptuando los extremos del escudete, en las gramíneas.

2.9.2.2 Semillas no viables:

- Embrión sin teñir.
- Embrión teñido completamente de rosa.
- Eje embrionario teñido solo en sus dos terceras partes.
- Área de inserción de los cotiledones sobre el eje embrionario sin teñir.
- Presencia de manchas rojas anormalmente oscuras.

Además, la intensidad del color depende que tan activa es la solución preparada y de la tasa de liberación de iones hidrógeno por las enzimas deshidrogenasas que intervienen en la respiración de las células. La temperatura favorece la velocidad de reacción: en un rango de

15 a 45 °C, cada aumento de 5 °C significa duplicar la tasa de reacción. No debe superar la temperatura de 45 °C durante el ensayo, o las células morirán.

Según Moreno (1996) para realizar una adecuada interpretación, se debe tener cuidado con aquellos daños que involucran los puntos de crecimiento, o que se encuentran localizados entre o junto a estructuras esenciales, ya que estos son más críticos que aquéllos de similar magnitud pero en regiones no vitales, como la punta de los cotiledones. El patrón de coloración revela las áreas vivas y muertas del embrión y permite al analista determinar si las semillas tienen la capacidad de producir plántulas normales.

Por otra parte, agrega que es importante conocer la actividad de los sistemas enzimáticos ya que decrecen paralelamente a la viabilidad de las semillas, por lo que se debe tener muy en cuenta que una coloración rojo intenso indica la presencia de células vivas en el embrión. En cambio la no coloración o coloración rosa pálido son indicativas de la muerte o poca viabilidad de las células embrionarias. Dicha reacción ocurre dentro de las células y dado que el pigmento rojo que se forma es insoluble, no hay difusión del color rojo a las otras células. Así las zonas viables que toman el color rojizo se delimitan de las zonas muertas que mantiene su color original. Esto ha permitido llamarla prueba topográfica del Tetrazolio.

Por lo que Copeland y McDonald (2004) refieren que los analistas experimentados aprenden a distinguir entre semillas con la capacidad para producir plántulas normales y aquéllas que se colorean anormalmente. Además comenta que las áreas de división celular del embrión son más críticas durante la germinación, y si están decoloradas o anormalmente coloreadas, el potencial de germinación es debilitado y recomienda que el analista debe familiarizarse con áreas cruciales de división celular del embrión y aprender a interpretar su patrón de coloración en términos de germinabilidad de la semilla. Concluyen que

una semilla es viable o no dependiendo de su capacidad para germinar y producir una plántula normal, en otro sentido la viabilidad denota el grado en el cual una semilla está viva, metabólicamente activa y posee enzimas capaces de catalizar reacciones metabólicas necesarias para la germinación y crecimiento de la plántula.

En este contexto una semilla dada puede contener tanto tejido vivo como muerto y puede o no ser capaz de germinar. Esto significa que hay relación entre la viabilidad del tejido y la semilla completa.

2.10 Causas y factores que afectan la germinación de la papaya

La germinación es el proceso en que el embrión adquiere el metabolismo necesario para reiniciar el crecimiento y transcribir las porciones del programa genético que lo convertirá en una planta adulta (Camacho, 1994).

Vázquez *et al.* (1997) argumentan que la germinación de las semillas comprende tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente: **1)** la absorción de agua por imbibición, causando su hinchamiento y la ruptura final de la testa, **2)** el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión, y **3)** el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula. En la mayoría de las semillas el agua penetra inicialmente por el micrópilo y la primera manifestación de la germinación exitosa es la emergencia de la radícula.

Sánchez y Sandoval (1993 citados por Pérez-Escalona, 1997) comentan que las condiciones necesarias para la germinación son:

1. Semilla viable.
2. Libre de letargo o latencia

3. Condiciones ambientales favorables (agua, temperatura y oxígeno)

4. Libre de patógenos.

Por otra parte en lo que se refiere a la germinación de la papaya Lange (1961, citado por Muñoz *et al.*, 1983) encontró que existen numerosos reportes acerca de los factores que intervienen en el procesos, de germinación de semilla de la fruta bomba (papaya).

Dentro de los factores intrínsecos que afectan la germinación influye grandemente el estado de maduración de la fruta que se selecciona para garantizar la producción de semilla viable. Además comentan que experiencias realizadas indican que la sarcotesta (arilo) impide el movimiento molecular de afuera hacia dentro de la semilla y viceversa, trayendo como consecuencia que existe un inhibidor natural en los tegumentos, que no pueda ser lavado en las condiciones del suelo, evitándose o deteniéndose la germinación hasta el momento en que el mismo se halle en estado de descomposición. Además comentan que Gherardi y Valio (1976), informan la aparición de sustancias inhibitorias y estimulantes en los arilos de semilla de *C. papaya*, y que Lange (1961) también citado por ellos sugiere la utilización de charcoral (carbón vegetal) como sustancia absorbente de los inhibidores de la germinación, así como la sumersión en agua durante 24 horas.

Pohlan *et al.* (2001) indican que la semilla obtenida del fruto se debe lavar con agua corriente para eliminar el mucílago que contiene, ya que es un inhibidor de la germinación.

Ibar (1986) sugiere que para facilitar la germinación de las semillas, debe eliminarse una capa de gelatina que las recubre, lo que se consigue tomando unas quince o veinte semillas y un puñado de tierra y frotarlas con las dos manos, y posteriormente lavar.

Por otra parte, Andreoli y Khan (1993) comentan que en varios trabajos la germinación de la semilla de papaya frecuentemente es lenta, errática e incompleta. Mientras que la sarcotesta

puede retrasar la germinación, la latencia también se observa en semillas en las que se ha removido la sarcotesta. Además, agrega que se han realizado varios intentos para superar la latencia y mejorar la germinación de la semilla de papaya. Tratamientos tales como remover la sarcotesta, prehumedecimiento en agua o lixiviados de promotores de la germinación en *Carica* spp. Los tratamientos con giberelina (GA_3) pueden o no incrementar el porcentaje de germinación, pero si reducir el tiempo de germinación. Basados en estudios previos, Yahiro (1979, citado por Andreoli y Khan, 1993) sugirió que una temperatura adecuada para la germinación podría ser 30 ó 20/30°C (16h/8h) respectivamente.

Lange (1961 citado por Obledo, 2002), atribuye evidencias que indican que la sarcotesta (membrana externa) contiene compuestos que inhiben la germinación del embrión. Obledo (2002) agrega, que en los protocolos de una casa comercial de la papaya Maradol recomiendan eliminar la sarcotesta y hacer uso de productos con hormonas para estimular la germinación, sugiere que esto indica la posibilidad de que exista cierta dependencia a la pulpa del fruto para la germinación de los embriones cigóticos, además refiere que la semilla de papaya presenta problemas de germinación en campo, en invernadero y en cultivo *in vitro*.

Para Vega (1996, citado por Obledo, 2002), esto puede sustentarse en la observación de semillas germinando incluso con su sarcotesta dentro de frutos maduros de papaya Maradol, lo cual es imposible de lograr *in vitro* y en campo, por lo tanto estas observaciones sugieren que para obtener mayor información sobre los requerimientos de germinación del embrión es recomendable estudiar los componentes no sólo del endospermo sino también los de la pulpa madura del fruto.

Gómez – Roldan *et al.* (1999, citados por Pérez y Acosta, 2002) mencionan que la imbibición lenta se ha asociado con dificultades en el proceso de germinación, además señalan que la

testa actúa como una barrera estructural que dificulta el paso del agua al interior de la semilla.

Nakasone y Paul (1998, citado por Mota, 2002) arguyen que en la semilla de papaya se debe eliminar la sarcotesta, en el momento de lavar las semillas, debido que aquí se encuentra una cantidad considerable de inhibidores de la germinación.

Además, comenta que otro factor que afecta la germinación entre papayas, puede ser en la formación de híbridos interespecíficos de la variedad Cera con otras *Caricas* silvestres ya, que, se presenta una falta de viabilidad en las semillas resultante de estos cruzamientos.

Muñoz *et al.*, (1983) aconsejan que en el manejo postcosecha, a los frutos seleccionados se les debe extraer la semilla manualmente, y después suprimir la sarcotesta que es la cubierta gelatinosa que envuelve a la semilla, ya que hay evidencias que indican que existe un inhibidor.

La temperatura es un factor determinante, referencias de germinación indican que en épocas cálidas tardan en germinar de 15 a 21 días y de 30 a 40 días en épocas frías, y presenta una germinación poco uniforme, con diferencias hasta de 4 y 7 días en emerger entre las primeras y las últimas plántulas, lo que provocaría un desarrollo desigual en el vivero o almácigo. Además, muchas semillas a pesar de estar vivas se mantienen en estado latente sin germinar (Abreu y Matheis, 2000).

Hartmann y Kester (1986) sustentan que en ciertos casos es posible lixiviar los inhibidores presentes en algunas semillas lavando en agua y que remojar las semillas antes de ponerlas a germinar acorta el tiempo de emergencia.

2.11 Latencia y quiescencia

Camacho (1994) comenta que en español se han usado las palabras dormancia, dormición, latencia, letargo, reposo y vida latente, para referirse a la ausencia o inhibición del crecimiento

vegetal y en particular de la germinación, y que vida latente son semillas vivas no germinadas y se emplea dormancia y letargo para referirse al estado de las semillas antes de que se efectúe la germinación.

Algunos autores emplean el término dormición, para referirse a la falta de germinación, debido a un medio desfavorable o a mecanismos inhibidores residentes en las semillas, mientras que otros autores nada más la usan para la última causa, y utilizan la palabra quiescencia para referirse a la falta de germinación debida a un medio desfavorable. Además, refiere que lo importante de la presencia de latencia es que permite que la especie disponga de un banco permanente de semillas viables en el suelo, dispuestas a germinar tan pronto como el ambiente sea propicio, para las semillas quiescentes y para las latentes conforme vayan eliminando inhibidores o perdiendo resistencia en las cubiertas duras, por lo que, se vuelven a poblar áreas cuya vegetación ha sido alterada, incrementa la posibilidad de dispersión y además preserva la viabilidad de las semillas porque impide que la germinación se haga de forma indiscriminada.

Para distinguir estas dos situaciones los fisiólogos de semillas han utilizado dos términos: latencia o letargo (ectolatencia), que es la condición de una semilla que no puede germinar por condiciones internas, aun cuando las condiciones externas (temperatura, humedad y atmósfera) son adecuadas y se encuentra bajo control endógeno. Por otra parte, *Quiescencia* (endolatencia), es cuando las condiciones del medio no son favorables para el crecimiento vegetativo a causa de una escasa disponibilidad de humedad, aireación o por una temperatura inadecuada (Salisbury y Ross, 1994).

Según Wilson y Loomis (1968) existe el caso donde la falta de quiescencia se da cuando el embrión se convierte directamente en plántula sin dejar de crecer y se encuentra dentro del

fruto. Este fenómeno se llama viviparidad y se da en monocotiledóneas y dicotiledóneas además, comenta que la falta de esta, es probablemente una condición primitiva y la quiescencia un producto posterior de la evolución.

Por último Camacho (1994) sugiere que existen poblaciones de semillas cuya germinación tenga una o más de las siguientes características:

1. *Incompletas*, ya que parte de la población permanece firme mucho tiempo, o sea, se imbiben pero no germinan ni se pudren, o bien, permanece dura, es decir, ni siquiera permite entrada de agua.
2. *Lenta* debido a que las semillas (individualmente o en conjunto) tardan en completar su germinación, se presenta en la papaya.
3. *Extremadamente sensible al medio*, ya que para efectuarse requiere determinadas condiciones de iluminación, temperatura o composición de la atmósfera, entre otros factores.

2.12 Principales causas del letargo en semillas.

Lasso (1975) indica que debido a las sustancias químicas inhibitoras, generalmente las semillas no germinan sino hasta que la mayor parte de la cubierta del ovario o la pared del fruto se han desprendido; las semillas por regla general no germinan dentro del fruto, sin embargo en el caso de las sustancias químicas que están presentes rodeando el embrión, su presencia como obstáculo de la germinación es una hipótesis; (aunque en la papaya suele ocurrir) no obstante los esfuerzos numerosos investigadores por corroborar dicha hipótesis su evidencia no son siempre claros, debido a que es sumamente difícil aislar e identificar a un inhibidor.

Por otra parte las sustancias químicas inhibidoras del crecimiento pueden muy bien controlar la germinación, sin embargo no son los únicos mecanismos que afectan la germinación con respecto a cubiertas, membranas y embrión de la semilla, aunque muchos conocimientos del desarrollo y del metabolismo, indican que la mayor parte de estos fenómenos resultan de procesos químicos (Wilson y Loomis, 1968; Lasso, 1975 Camacho, 1994).

Rojas y Ramirez (1987) mencionan algunos ejemplos a) testa dura (coco). b) testa impermeable (alfalfa, trébol). c) Embrión rudimentario (gingko, fresno) o no totalmente formado. d) Embrión fisiológicamente inmaduro (lechuga, avena) incapaz de poner en marcha ciertos sistemas enzimáticos. e) Presencia de inhibidores (cafeto, manzano) en la testa o en el endospermo que reprime el desarrollo inicial del embrión.

Samarah *et al.* (2004) refieren que durante el desarrollo de la semilla, éstas experimentan cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos. Algunos de estos cambios son la adquisición de la capacidad de germinación, el desarrollo de tolerancia a la desecación y latencia. También, comentan que la latencia de semilla es otro factor importante que afecta la germinación de la semilla. De esta manera el estado de madurez de la semilla al ser cosechada puede afectar la latencia y la germinación.

2.13 Almacenamiento de semilla de papaya

Dile *et al.* (1978, citado por Mota, 2002) comenta que la calidad fisiológica involucra la viabilidad, germinación, y vigor de la semilla, lo cual es resultado de la expresión de factores genéticos y su interacción con los factores del medio que lo rodean durante su desarrollo, cosecha y almacenamiento.

Con respecto a la longevidad de las semillas Hartman y Kester (citado por Moore y Janick, 1988) dividen a las plantas que producen semillas en 3 grupos en relación con su longevidad: de *vida corta* (desde unos cuantos días o meses a cuando mucho un año), de *vida intermedia* (aquellas que permanecen viables por dos o tres o quizás hasta quince años) y de *vida larga* (aquellas que permanecen viables por cuanto menos 15 a 20 años), esto es importante para un almacenamiento adecuado.

Por otra parte, temperaturas mayores de 28 °C y HR por encima de 70%, pueden tener efecto detrimental sobre la viabilidad de las semillas sin latencia durante el almacenamiento.

Es así que la semilla de papaya se ubica como una semilla muy sensible a los cambios de temperatura y de humedad, dichos cambios causan una disminución progresiva de la viabilidad y el porcentaje de germinación por lo que se debe conservar el menor tiempo posible bajo las condiciones del medio ambiente reinante.

Además, se sugiere adquirirla en el momento en que este listo el vivero para sembrarla, en caso de que no se siembre de inmediato, se debe colocar en refrigeración, de preferencia, dentro de una bolsa de plástico o nylon para evitar que se afecte por humedad, en cualquier caso no se debe mantener en estas condiciones por periodos mayores a 1 mes¹.

Nakasone y Paul (1998 citados por Mota, 2002) sugieren que las semillas de papaya almacenadas en condiciones de 7 - 10°C y con humedad relativa de 50% permanecen viables por varios años.

Obledo (2002) comenta que la semilla de papaya revela ser muy recalcitrante.

¹ www.semilladelcaribe.com.mx

2.14 Semillas ortodoxas

Maroder et al. (2003) refieren que las semillas ortodoxas se desprenden de las plantas con bajo contenido de humedad y puede disminuirse aún más con secado artificial hasta valores cercanos al 5% o menos sin pérdida de la viabilidad.

Su longevidad se incrementa al disminuir la temperatura y el contenido de agua de la semilla pudiendo establecerse una relación cuantitativa entre longevidad y ambos factores cuando estos se mantienen constantes.

IBPGR (1986) refiere que las semillas de papaya son ortodoxas y se mantienen viables cerca de un año o más si se secan y se mantienen a 12°C en un recipiente cerrado herméticamente.

2.15 Semillas recalcitrantes

Ellis (1984, citado por Mota, 2002) clasificó a las semillas de la papaya (*Carica papaya* L.) dentro del grupo de recalcitrantes.

Maroder *et al.* (2003) afirman que el comportamiento de estas semillas es perder su viabilidad cuando su contenido de agua se reduce por debajo de los valores relativamente altos y la posibilidad de conservarlas a temperaturas bajo cero queda excluida debido a que parte del agua que contienen forma hielo, lo cual resulta letal para la célula.

Moore y Janick (1988) comenta que existe el grupo de semilla de vida intermedia donde deben almacenarse a baja humedad relativa y de preferencia a baja temperatura. Por lo que para el almacenamiento de semillas recomienda: extraer las semillas, limpiarlas, secarlas al aire, meterlas en sobres de papel, tubos de ensayo, botellas, frascos o latas, sellarlas y etiquetarlas almacenándolas a temperatura ambiente en un lugar oscuro libre de roedores,

hasta que se requieran utilizar. O almacenarlas a temperatura cálida (de 21 a 27°C) en recipientes sellados a 50% HR o menos.

Maroder *et al.* (2003) refieren que las semillas de comportamiento intermedio no toleran la deshidratación a tan bajos valores como las ortodoxas y pueden ser sensibles a las bajas temperaturas ver cuadro 2.

Con respecto a la semilla de papaya Word, *et al.* (2000, citado por Mota, 2002) menciona que puede ser clasificada como intermedia entre los grupos de semillas ortodoxas y recalcitrantes, debido a que exhibe signos de estrés por desecación a un contenido de humedad menor al 8%. Al menos algunas porciones de semillas de papaya sobreviven a una desecación de un contenido de humedad del 5% y sus embriones y endospermo tienen oligosacáridos, en una proporción semejante a muchas semillas ortodoxas.

Es importante conocer que la semilla de papaya en base a la duración de su viabilidad, se clasifica dentro de las semillas intermedias, por lo que se puede almacenar alrededor de 10 años, desecándola hasta un 7-10% de contenido de humedad, y mantenerla a temperatura de un laboratorio a 26°C Vásquez *et al.* (1997).

Cuadro 2. Tipos de semillas según el comportamiento durante el almacenaje.

| TIPO SEMILLA | ORTODOXAS | INTERMEDIAS | RECALCITRANTES |
|-------------------------|---|--|-------------------------------|
| Características: | Toleran la deshidratación a valores aproximados de 3% o más bajos | No toleran la deshidratación a tan bajos valores como las ortodoxas y pueden ser sensibles a las bajas temperaturas. | No toleran la deshidratación. |
| Ejemplos: | Maíz, trigo, cebada, quinoa, soja | Sauce, álamo | Araucaria, palmito |

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del área de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Instituto de Ciencias y Tecnología de Semillas (INCITES) del Departamento de Producción Agrícola de la División de Ciencias Agronómicas del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA). Universidad de Guadalajara (UdeG), ubicada en el predio las Agujas, municipio de Zapopan, Jalisco.

3.2 Material genético

Experimento I: se utilizó semilla comercial de papaya Amameyado.

Experimento II: Se utilizó semilla comercial de papaya Maradol Roja.

3.3 Material químico

La preparación de las concentraciones con la sal 2, 3, 5 trifenilTetrazolio (TZ) se aprecia en el cuadro 3.

Cuadro 3. Cantidad requerida de Tetrazolio para preparar las soluciones .

| CANTIDAD DE TETRAZOLIO | VOLUMEN A AFORAR | CONCENTRACIÓN OBTENIDA |
|------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1.25gr. | 250mL agua destilada* | 0.5% |
| 2.50gr. | 250mL* | 1.0% |
| 3.75gr. | 250mL * | 1.5% |
| 5.0gr. | 250mL * | 2.0% |

* = cada una de las soluciones se disolvieron en agua destilada.

3.4 Establecimiento del experimento:

La fase experimental en los experimentos I y II se desarrolló en las siguientes etapas: en el experimento I se utilizó semilla de papaya variedad Amameyado y en el experimento II semilla de papaya Maradol Roja previamente homogeneizadas siguiendo la recomendación de Peretti (1994), ambas variedades de procedencia comercial utilizando por cada uno, una muestra de 1920 semillas.

Los experimentos se dividieron en tres etapas:

3.4.1 Análisis de composición química en semillas de papaya Amameyado y Maradol Roja:

Consintió en determinar la composición química de la semilla que sirviera como referente respecto a longevidad, viabilidad y conservación, ya que, de esto depende el grado de deterioro y estado fisiológico. En este análisis se determinó la humedad, proteínas y grasas, empleando el protocolo de Tejada (1995). Estos análisis fueron realizados en el laboratorio de Bromatología del Departamento de Producción Animal del CUCBA.

3.4.2 Determinación del periodo de imbibición, concentraciones de Tetrazolio y temperaturas en semilla de papaya Amameyado y Maradol Roja:

Se generó un total de 64 tratamientos para la determinación de periodo de imbibición, concentración y temperatura (Cuadro 4.). Se prepararon 32 tratamientos en Amameyado y Maradol. Empleado 180 semillas, divididas en tres repeticiones de 60 (debido a la frecuencia alta de semilla vana en esta variedad). Para la semilla de papaya Maradol Roja se utilizaron 120 semillas en tres repeticiones de 40. Las semillas se colocaron en bolsas de papel encerado identificando cada tratamiento con el tiempo de imbibición, concentración de Tetrazolio y temperatura.

Cada una de las muestras se sometió a periodos de imbibición de 6, 8, 10, 12 hrs agregándoles 50ml de agua purificada, y se colocaron dentro de una estufa a 30°C.

Una vez transcurrido el tiempo de imbibición, se escurrió el agua y se vertieron las semillas en cajas de petri. Se tomó al azar de las 60 semillas imbibidas de papaya Amameyado, sólo 40 por repetición (evitando las vanas). De la misma manera para la semilla de papaya Maradol Roja, se escarificaron y se les extrajo con un estilete el embrión, colocándolos sobre un pedazo de papel germinador ligeramente humedecido con agua purificada, para evitar que los embriones se deshidrataran, mientras se terminaba la extracción del resto de ellos.

Una vez extraídos los embriones de cada una de las variedades y con ayuda del estilete se colocaron dentro de cajas de plástico 120 embriones completos divididos en tres repeticiones de 40 y se les agregó 2ml de las concentraciones de Tetrazolio de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0% respectivamente (cuadro 4).

Cuadro 4. Tratamientos utilizados en la segunda etapa en los dos experimentos.

| Imbibición (horas) agua | Concentración de TZ % [†] | | | | Temperatura de exposición al TZ ^{††} | |
|-------------------------|------------------------------------|-----|-----|-----|---|------|
| 6 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 35°C | 43°C |
| 8 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 35°C | 43°C |
| 10 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 35°C | 43°C |
| 12 | 0.5 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 35°C | 43°C |

[†] = Las semillas permanecieron cinco horas en estas concentraciones en los dos experimentos.

^{††} = sal de Tetrazolio.

Posteriormente se les cubrió con papel aluminio a cada tratamiento, se etiquetaron y se colocaron en una estufa a 35°C y 43°C respectivamente por un periodo de 5 horas, ya pasando el tiempo prescrito para cada tratamiento y con ayuda de una piceta y coladera se enjuagaron los embriones para quitar restos de la solución de Tetrazolio y se prepararon para su observación en un microscopio estereoscópico adicionando una lámpara para realizar la descripción topográfica de los embriones.

Se analizaron de acuerdo al grado de coloración propuesto por Shie y Kuo (1999) los cuales clasificaron doce patrones de coloración del embrión de la papaya y se derriben en el anexo 1, y se pueden complementar con los del anexo 2.

3.4.3 Prueba de germinación estándar en semilla de papaya Amameyado y Maradol Roja:

En la prueba de germinación estándar se utilizó una muestra de 400 semillas de cada muestra repartidas en 8 repeticiones de 50.

Se lavaron las semillas de papaya Amameyado y se frotaron suavemente en la coladera para eliminar la sarcotesta, ya que, hay evidencias de inhibidores y para la semilla Maradol Roja sólo se enjuagó, ya que, no había presencia de sarcotesta.

Posteriormente se imbibieron en agua purificada con un pH neutro, cambiándose el agua cada 12 horas durante dos días (Abreu y Matheis, 2000) esto para eliminar la latencia. La técnica para el ensayo de germinación fue la de entre papel (EP), que consiste en colocar las semillas entre dos toallas de papel germinador, humedecidos y enrollados se guardan en bolsas de plástico, eliminando el excedente de agua y se ponen en la cámara germinadora a 35°C durante 60 días haciendo el primer conteo a los 15 días, el segundo a los 35 días y el tercero a los 50 días hasta completar los 60 días, evitando el exceso y falta de agua, (Peretti, 1994).

Una vez transcurrido el tiempo de germinación se llevó a cabo la evaluación de las plántulas, tomando en cuenta los siguientes criterios (Moreno, 1996):

Plántulas normales: deben estar presentes todas las estructuras esenciales como son un hipocótilo, epicótilo, sistema radical bien definido, pecíolo, yema terminal y dos cotiledones y ligeros daños siempre y cuando el daño no afecte los tejidos conductores.

Plántulas anormales: son anormales todas plántulas que no se pueden clasificar como normales por tener alguna deficiencia en el desarrollo de sus estructuras esenciales, que le impiden un desarrollo normal, como son sin cotiledones, con fisuras o lesiones que dañen al tejido conductor del hipocótilo, epicótilo o raíz. Además, plántulas deformes con desarrollo débil o desequilibrado de las estructuras primordiales retorcidos en espiral y plántulas sin desarrollo después de haber salido de los cotiledones.

Semillas duras: son aquellas que permanecen duras al final de la prueba de germinación, ya que no absorben agua por tener cubiertas impermeables.

Semillas frescas o no germinadas: absorben agua hasta hincharse pero no germinan ni entran en estado de descomposición, este fenómeno se debe principalmente a un problema de latencia.

Semillas muertas: son las semillas que no germinan y que no se consideran como latentes o duras, presentan tejidos suaves y se descomponen durante la prueba.

Una vez concluida la prueba se contabilizan las normales y se obtienen porcentajes.

3. 5 Diseño experimental

Se aplicó tanto para el experimento I, II un arreglo factorial (4 x 4 x 2) bajo un diseño experimental completamente al azar (Montgomery, 1991).

Factor A: tiempo de imbibición:

A1= 6hrs.

A2= 8hrs.

A3= 10hrs.

A4= 12hrs.

Factor B: concentración de Tetrazolio:

b1= 0.5%.

b2= 1.0%.

b3= 1.5%.

b4= 2.0%.

Factor C: temperatura:

C1= 35⁰C.

C2= 43⁰ C

3. 6 Análisis Estadístico

Para medir la influencia de los factores sobre la cantidad de semillas viables de cada variedad, se obtuvieron las tablas de contingencia correspondientes y se procedió con las pruebas de homogeneidad mediante la χ^2 .

La evaluación se realizó con Excel[®]. En forma adicional, se separó una muestra de semillas de cada grupo para probar la germinación estándar efectuando porcentajes.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de la composición química de las semillas de papaya Amameyado y Maradol Roja:

Los resultados del análisis de composición química, que se realizaron en las dos variedades se observan en el cuadro 5, y se puede apreciar, que en semillas de papaya Amameyado el contenido de humedad es de 1.10%, muy por debajo de lo recomendado, por lo que, se puede ver afectada su viabilidad, ya que su metabolismo es casi nulo y, por ende, los sistemas de respiración no están activos. Cabe señalar que la semilla de papaya es considerada recalcitrante intermedia. Por lo que Maroder *et al.* (2003) refieren que las semillas de comportamiento intermedio no toleran la deshidratación a tan bajos valores como las ortodoxas y pueden ser sensibles a las bajas temperaturas lo cual, el bajo contenido de humedad pudo haber afectado de manera significativa la capacidad germinativa y viabilidad facilitando el deterioro del embrión.

Cuadro 5. Análisis de composición química de la semilla en papaya Amameyado y Maradol Roja.

| VARIEDAD | AMAMEYADO | MARADOL ROJA |
|-----------|-----------|--------------|
| HUMEDAD | 1.10% | 6.89% |
| PROTEÍNAS | 26.40% | 23.94% |
| GRASAS | 32.45% | 21.00% |

Laboratorio de Producción de Bromatología del Departamento de Producción Animal .CUCBA.

Después de ser sometidas durante el periodo de imbibición y ser escarificadas para extraerle el embrión aún se conservaba la consistencia dura en la testa en los primeros tiempos de imbibición inferiores a 12 horas, a diferencia de la semilla de Maradol que presentó testa más blanda al momento de ser escarificada en todos los tratamientos pero sí se observó el hinchamiento por causa de la imbibición. En lo que respecta a proteínas la variedad Amameyado resultó más alta que la variedad Maradol, lo que pudo influir en la absorción de agua.

En la semilla de la variedad Maradol se observa en el cuadro 5, que el contenido de humedad fue de 6.89% y se considera mejor a diferencia de la Amameyado, este contenido de humedad está próximo a valor que señala Vázquez *et al* (1997) para un adecuado almacenamiento y es por esto que posiblemente presentó mayor capacidad de germinación y viabilidad.

En cuanto al contenido de proteína con 23.94% se considera alto y es por ello que absorbe una mayor cantidad de agua y de una manera más rápida comparada con otros cultivos que contienen menos proteína.

En el análisis de contenido de grasas la variedad Amameyado presentó 32.45% y la variedad Maradol 21%, cual refiere que a mayor contenido de ácidos grasos la longevidad se acorta provocando el deterioro progresivo de la semilla de papaya.

Por lo que Bernal – Lugo (2001) refiere que existe evidencia que en las semillas de oleaginosas, la acidez aumenta como consecuencia del envejecimiento. Aparentemente, esto es reflejo de la constante producción de ácidos grasos libres por actividad lipolítica, hidrólisis de fitina y proteólisis dentro de las semillas secas. El envejecimiento puede provocar entrecruzamiento de proteínas, que aunado a la actividad proteolítica puede ser factor

importante en el daño a diversas enzimas; por lo tanto, no es extraño que haya evidencia que correlacione la pérdida de viabilidad con una disminución en actividad enzimática.

4.2 Análisis de la tabla de contingencia en variedades, temperaturas, concentraciones y tiempos de imbibición.

En los cuadros 6 y 7 se pueden observar las temperaturas, concentraciones, tiempos de imbibición (vertical) total de embriones muertos y viables, total de semilla utilizada en la prueba y porcentaje de viabilidad. Cabe mencionar que para realizar el análisis estadístico se consideraron los grados de coloración descritos por Shie y Kuo (1999) en los cuales 1, 2, y 3 representan los embriones viables (germinables) anexo 1, y de la coloración 4 al 12 se consideraron embriones no viables (muertos).

Se tomó como referencia este patrón de coloración, ya que, al analizar la descripción topográfica que utilizaron, se refieren indicaciones relevantes que el manual de la ISTA recomienda, para analizar los embriones, donde las partes vivas con grado de coloración 1, 2,3 las describe con rojos vivos, de las deterioradas con grado del 4 al 11 las cuales se colorearon con rojos menos intensos o rosas pálidos y las muertas sin coloración y se consideran argumentos como los que refiere Moreno, (1996) que indica que un embrión puede ser viable siempre y cuando no presente un poco más de la punta de la radícula sin teñir, además argumenta que la actividad de los sistemas enzimáticos decrece paralelamente a la viabilidad de las semillas; por lo tanto una coloración rojo intenso indica la presencia de células vivas en el embrión. En cambio la no coloración o coloración rosa pálido son indicativas de tejido muerto o poca viabilidad de las células embrionarias.

La reacción de la sal de Tetrazolio ocurre dentro de las células y dado que el pigmento rojo que se forma es insoluble, no hay difusión del color rojo a las otras células. También considero los puntos de crecimiento, que se encuentren localizados entre o junto a estructuras esenciales. A esto Copeland y McDonald (2004), refiere que las áreas de división celular del embrión son más críticas durante la germinación, y si están coloreadas o anormalmente coloreadas, su potencial de germinación es debilitado.

Con respecto a la presencia de embriones viables por experimento se observó lo siguiente:

Experimento I:

En la variedad Amameyado en el cuadro 6, se aprecia que en la temperatura de 35°C, la concentración de 1.5 resultó ser la mejor al manifestar un total de 49 embriones viables en todos los tiempos de imbibición, mientras que la concentración menos favorable fue la de 2.0% con sólo 8 embriones viables, esto en todos los tiempos de imbibición.

Otro aspecto importante es que al realizar la prueba de Tetrazolio con una temperatura de 43 °C con 6 horas de imbibición y una concentración, de 2% reflejó 26 embriones viables tendiendo a aumentar la viabilidad, aspecto que no ocurrió en la Maradol. A este respecto Costa *et al.* (1998) mencionan que según Costa (1992), Hsu *et al.*, (1983), Burch & Delouche (1959) detectaron que temperaturas elevadas pueden aumentar la velocidad de imbibición de la semilla, permitiendo el hinchamiento de las mismas en periodo relativamente cortos y, consecuentemente, obteniendo una reducción de tiempo para la ejecución de la prueba de Tetrazolio.

Por lo que se puede sugerir utilizar la temperatura de 43 °C en estudios posteriores y con otras variedades de papaya para tratar de acortar el tiempo de la prueba.

En la temperatura que reflejo mayor cantidad de embriones viables fue la de 35 °C con un total de 90 considerando tiempo de imbibición y concentraciones. (cuadro 6).

Con respecto al tiempo de imbibición se observa que 10 y 12 horas no hay diferencia en cuanto a embriones viables siendo en totales de 14 y 15 respectivamente.

Por lo que el mejor tratamiento en Amameyado fue a una temperatura de 35 °C una concentración de 1.5 y 10 horas de imbibición obteniéndose 12% de viabilidad.

En cuanto a la tonalidad de la coloración, en los embriones viables se apreció un color rojo carmín intenso.

Experimento II:

En el cuadro 7, que se refiere a la variedad Maradol la temperatura de 35°C y la concentración de 1.0 mostraron la mayor presencia de embriones viables con una cantidad de 106, esto tomando en cuenta todos los tiempos de imbibición. Mientras que a una temperatura de 43°C se puede apreciar la poca presencia de embriones viables.

Por lo que el mejor tratamiento fue con un tiempo de imbibición de 10 horas, temperatura de 35°C y una concentración de 1.0% con 31% de viabilidad (cuadro 7 y 9).

La concentración en la que se obtuvo el mayor número de embriones viables en la variedad Amameyado fue de 1.5 % en 35°C y 2.0% en 43 °C y para Maradol fue de 1.0%, a 35 °C y 10 horas de imbibición coinciden con aquellas semillas que contienen mayor concentración de lípidos por ejemplo cacahuete, ajonjolí, soya, girasol, las cuales utilizan concentraciones de Tetrazolio de 1.0% y por consiguiente la semilla de papaya también se ubica dentro de esta categoría, por lo tanto, de estos resultados se induce como se apreció en el cuadro 5, que la semilla de papaya al ser oleaginosa requiere mayores concentraciones de Tetrazolio para su tinción con respecto a semillas que tienen un menor contenido de lípidos.

Cuadro 6. Efecto de la temperatura, concentración y tiempo de imbibición sobre la determinación de viabilidad en embriones de papaya Amameyado.

| Segunda etapa: Variedad Amameyado | | | Embriones de Papaya | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------|---------------------|---------|---------------|------------------------------|--|
| Temperatura | Concentración (%) | Tiempos de Imbibición (Hrs) | Muertas | Viables | Total General | Porcentaje de Viabilidad (%) | |
| 35°C | 0.5 | 10 | 117 | 3 | 120 | 2.5 | |
| | | 12 | 118 | 2 | 120 | 1.6 | |
| | | 6 | 116 | 4 | 120 | 3.3 | |
| | | 8 | 116 | 4 | 120 | 3.3 | |
| | Total 0.5 | | | 467 | 13 | 480 | |
| | 1 | 10 | 110 | 10 | 120 | 8.3 | |
| | | 12 | 115 | 5 | 120 | 4.1 | |
| | | 6 | 117 | 3 | 120 | 2.5 | |
| | | 8 | 118 | 2 | 120 | 1.6 | |
| | Total 1 | | | 460 | 20 | 480 | |
| | 1.5 | 10 | 106 | 14 | 120 | 11.6 | |
| | | 12 | 105 | 15 | 120 | 12.5 | |
| | | 6 | 110 | 10 | 120 | 8.3 | |
| | | 8 | 110 | 10 | 120 | 8.3 | |
| | Total 1.5 | | | 431 | 49 | 480 | |
| | 2 | 10 | 117 | 3 | 120 | 2.5 | |
| | | 12 | 118 | 2 | 120 | 1.6 | |
| | | 6 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 8 | 118 | 2 | 120 | 1.6 | |
| | Total 2 | | | 472 | 8 | 480 | |
| Total 35°C | | | 1830 | 90 | 1920 | | |
| 43°C | 0.5 | 10 | 115 | 5 | 120 | 4.1 | |
| | | 12 | 117 | 3 | 120 | 2.5 | |
| | | 6 | 115 | 5 | 120 | 4.1 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 0.5 | | | 467 | 13 | 480 | |
| | 1 | 10 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 12 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 6 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 1 | | | 480 | 0 | 480 | |
| | 1.5 | 10 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 12 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 6 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 8 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | Total 1.5 | | | 477 | 3 | 480 | |
| | 2 | 10 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 12 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 6 | 94 | 26 | 120 | 21.6 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 2 | | | 453 | 27 | 480 | |
| Total 43°C | | | 1877 | 43 | 1920 | | |
| Total general | | | 3707 | 133 | 3840 | | |

Cuadro 7. Efecto de la temperatura, concentración y tiempo de imbibición sobre la determinación de viabilidad en embriones de papaya Maradol Roja.

| Segunda etapa: Variedad Maradol Roja | | | Embriones de Papaya | | | | |
|--------------------------------------|-------------------|-----------------------------|---------------------|---------|---------------|------------------------------|--|
| Temperatura | Concentración (%) | Tiempos de Imbibición (Hrs) | Muertas | Viables | Total General | Porcentaje de Viabilidad (%) | |
| 35°C | 0.5 | 10 | 102 | 18 | 120 | 15 | |
| | | 12 | 95 | 25 | 120 | 20.8 | |
| | | 6 | 99 | 21 | 120 | 17.5 | |
| | | 8 | 87 | 33 | 120 | 27.5 | |
| | Total 0.5 | | | 383 | 97 | 480 | |
| | 1 | 10 | 83 | 37 | 120 | 30.8 | |
| | | 12 | 92 | 28 | 120 | 23.3 | |
| | | 6 | 110 | 10 | 120 | 8.3 | |
| | | 8 | 89 | 31 | 120 | 25.8 | |
| | Total 1 | | | 374 | 106 | 480 | |
| | 1.5 | 10 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 12 | 96 | 24 | 120 | 20 | |
| | | 6 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 1.5 | | | 455 | 25 | 480 | |
| | 2 | 10 | 111 | 9 | 120 | 7.5 | |
| | | 12 | 113 | 7 | 120 | 5.8 | |
| | | 6 | 116 | 4 | 120 | 3.3 | |
| | | 8 | 117 | 3 | 120 | 2.5 | |
| | Total 2 | | | 457 | 23 | 480 | |
| Total 35°C | | | 1669 | 251 | 1920 | | |
| 43°C | 0.5 | 10 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 12 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 6 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 0.5 | | | 479 | 1 | 480 | |
| | 1 | 10 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 12 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 6 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 1 | | | 480 | 0 | 480 | |
| | 1.5 | 10 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 12 | 115 | 5 | 120 | 4.1 | |
| | | 6 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 1.5 | | | 475 | 5 | 480 | |
| | 2 | 10 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 12 | 118 | 2 | 120 | 1.6 | |
| | | 6 | 119 | 1 | 120 | 0.8 | |
| | | 8 | 120 | 0 | 120 | 0 | |
| | Total 2 | | | 476 | 4 | 480 | |
| Total 43°C | | | 1910 | 10 | 1920 | | |
| Total general | | | 3579 | 261 | 3840 | | |

4.3 Análisis de la prueba de germinación estándar en las dos variedades:

En lo que respecta a la prueba de germinación estándar se aprecia en el cuadro 8 donde para la variedad Amameyado de las 400 semillas, sólo 32 germinaron con plántula normal y esto es el 8% de germinación. El resto presentó problemas de hongo y se reportaron como muertas.

Cabe recordar que esta semilla, además de presentar semillas vanas también tenía presente la sarcotesta pegada a la endotesta y se le retiró, ya que Gherardi y Valio (1976), Pohlen *et al.* (2001) y Obledo (2002), atribuyen evidencias que indican que la sarcotesta (membrana externa) contiene compuestos que inhiben la germinación del embrión. Esto se explica en que al ser la sarcotesta una barrera para el libre paso de gases y agua así como contener inhibidores y además que su testa es dura se asume que la latencia de la papaya es de tipo endógena.

Además, cabe mencionar que en la semilla de Amameyado la prueba de viabilidad resultó con un porcentaje un tanto más alto que la germinación lo que se pudiera sugerir, que es por causa de latencia, pero, se puede explicar además a que la mayoría de los embriones estaban en una etapa muy avanzada de deterioro, la mayoría en un grado de coloración de 11, y en la prueba de germinación estándar se observó así mismo la mayoría podridas con hongo es decir muertas.

En lo que respecta en Maradol, de 400 semillas sólo 140 fueron normales y 100 anormales, el resto resultó ser semilla muerta. Por lo que refleja un porcentaje de germinación de 35% (cuadro 8).

Es así que la baja germinación que se presentó en ambas variedades, es que ambas al ser adquiridas en una casa comercial, que no dio con exactitud referencias exactas de la fecha de

almacenamiento, manejo de cosecha y control de calidad, se vio reflejado en los bajos porcentajes de viabilidad y germinación.

Cuadro 8. Prueba de germinación estándar en semillas de papaya Amameyado y Maradol Roja.

| Variedad | Papel germinador |
|------------------|-------------------------|
| Amameyado | 8% |
| Maradol | 35% |

4.4 Análisis de la concordancia entre viabilidad y germinación en las dos variedades.

La relación entre viabilidad y germinación, se aprecia en el cuadro 9, la variedad Amameyado, presentó 14 embriones viables de 120 analizados y representa el 12% de viabilidad.

Para la variedad Maradol Roja presentó 47 de 120 analizados (que es el 100%) y representa la mayor presencia de embriones viables con 10 horas de imbibición a 35°C, y una concentración 1.0% obteniéndose un 31% de viabilidad siendo el mejor tratamiento.

Se observó que en la concordancia entre viabilidad y germinación mostraron valores aceptables ya que en Amameyado reflejó 12% de viabilidad y 8% de germinación con una diferencia de 4% que puede deberse a latencia o error de tolerancia y en Maradol Rojo presentó un 31% de viabilidad y 35% de germinación con 4% de diferencia entre ambas pruebas por lo que se presentó una relación dentro de los límites permitidos.

En cuanto a los límites permitidos de diferencia, Moreno (1996) refiere que los resultados de la prueba con Tetrazolio y las de germinaciones, efectuadas en forma adecuada, generalmente están en estrecha concordancia dentro de los límites normales de variación, por

lo que las diferencias de 3 a 5% se pueden considerar dentro del error, debido al muestreo. Además agrega que tales diferencias en los resultados usualmente son más pequeñas en lotes de alta calidad que en los lotes de baja calidad.,

Cuadro 9. Concordancia entre viabilidad y germinación en variedades Amameyado y Maradol

| Variedad | Viabilidad | Germinación |
|------------------|-------------------|--------------------|
| Amameyado | 12% | 8% |
| Maradol | 31% | 35% |

5. CONCLUSIONES

1. La eficiencia de la prueba de viabilidad en *Carica papaya* L. esta en función de la variedad, composición química, porcentaje de humedad y nivel de deterioro de la semilla.
2. Para realizar la prueba de viabilidad en la variedad Amameyado es necesario exponer los embriones a una concentración de 1.5%. Para la variedad Maradol se debe utilizar una concentración de 1.0%, en ambos casos es necesario imbibir durante 10 horas a una temperatura de 35° C.
3. Se encontró concordancia entre el porcentaje de germinación y el porcentaje de viabilidad.

6. LITERATURA CITADA

- Abreu, D. F. y Matheis, T. L.** 2000 a. Metodología para pregerminar la semilla de papaya Maradol Roja. Ed. Plantaciones Modernas. AGROSEM^{MR} 5(1): 5
- Abreu, D. F. y Matheis, T. L.** 2000 b. El cultivo de la papaya Maradol Roja (*Carica papaya* L.) en México. Ed. Plantaciones Modernas. AGROSEM^{MR} 5(1): 8
- Andreoli C. y Khan A.A.** 1993. Improving papaya seedling emergence by matricconditioning and gibberellin treatment. HortScience 28(7): 708 – 709.
- Alzugaray C., Salinas, A. R. y Carnevale – Rosana, P. N. J.** 2003. Semillas de especies forestales nativas argentinas. Seed News 7(5): 27p.1 – 8.
- Bernal – Lugo, I.O.** 2001. Deterioro bioquímico de semillas. En: Memorias del XI Curso de Actualización en Tecnología de Semillas. Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Besnier R., F.** 1989. Semillas. Biología Y Tecnología. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 637p.
- Bülow, A.** 2002. Garantía de calidad en el comercio de semillas. Seed News 6(4): 8 - 9.
- Camacho M., F.** 1994. Dormición de Semillas: Causas y Tratamientos. Ed. Trillas. México, D.F.125p.
- Coelho, N. A. D. L.** 2001. Evaluación de la calidad de semillas. Seed News 5(3): 17–18.
- Conzatti,C. y Smith, L.C.** 1981. Flora sinóptica mexicana. 3^{er} edición. México. pp. 257-259.
- Copeland L., O. y McDonald, M. B.** 2004. Principles of Seed Science and Technology. 4th Edition. Ed. Kluwer Academia Publishers. USA. pp. 125 – 137.
- Costa, N.P. da, Franca Neto, J. B., Krzyzanowski, F.C. et al.** 1998. Avaliacao de Metodologia Alternativa para o Teste de Tetrázólio para Sementes de Soja. Sci. Agric. 55 (2): 305 – 312.
- Chagolla, N. J. N.** 1984. Embriogénesis somática en embriones Inmaduros de papaya (*Carica papaya* L. Var. Cera) Cultivados *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo.
- Chao, M. A. C. y Mora, E. F. J.** 2000. El mercado de la papaya (*Carica papaya* L.) en México y el mundo. Ed. Plantaciones Modernas. AGROSEM^{MR} 5(1): 16
- Delouche C. J.** 2002. Germinación, Deterioro y Vigor de Semillas. Seed News 6(6): 1– 8.

- Díaz – Luna, C. y Lomelí – Sención, A.** 1997. Flora de México. Fanerógamas: Familia Caricaceae. Vol.7. No. 1. Consejo Nacional de la flora de México. México, D.F. 3p.
- Gutiérrez – Mora, A.** 2002. Micropropagación y mejoramiento genético de papaya. *Carica Papaya*) var. Maradol. Tesis de Doctorado. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara. 5 p.
- Hartmann, H.T. y Kester D. E.** 1986. Propagación de plantas. Ed. CECSA. México. pp:191 – 202.
- Ibar, L. A.** 1986. Cultivo del aguacate, Chirimoyo, mango y papaya. Ed. Aedos. España. 173p.
- IBPGR.** 1986. Genetic Resources of Tropical and Subtropical Fruits and Nuts (excluding Musa). Ed. International Board for Plant Genetic Resources. IBPGR. Rome, Italy. 34p.
- Lange, A.H.** 1961. Effect of sarcotesta on germination of *Carica papaya*. Botanical Gazette. Jun. pp. 305-311.
- Lasso, G. T.** 1975. Escarificación de Semillas de Leguminosas y Gramíneas en el Trópico Húmedo. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. 8p.
- Lassoudière, A.** 1968. Le Papayer. Fruits. 23: 585 – 587.
- Lemos, de M. N.** 2001. Pruebas rápidas. Seed News 5(3): 20 -21.
- López, R. G. F.** 1990. Sistemática de Plantas Cultivadas. Serie agronomía No. 20. Colección Cuadernos Universitarios. Universidad Autónoma Chapingo. México. 116p.
- Maroder H. , Prego I. y Maldonado S.** 2003. Conservación de semillas. Seed News 7(5): 11.
- Mc Donald, B.M.** 2002. A Philosophy of Dormancy Testing in Native Species. Seed Technology 24(1): 27 – 35.
1. **Montgomery, D. C.** 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Grupo Editorial Iberoamérica. México. D.F. pp 119 – 154.
- Moore J. N. y Janick J.** 1988. Métodos Genotécnicos en Frutales. Ed. A.G.T.Editor, S.A. Primera edición. México. pp. 46-58.
- Moreno N.P.** 1980. Flora de Veracruz. Caricaceae. Fascículo 10. Instituto Nacional de Investigaciones Sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz. México.
- Moreno, M. E.** 1996. Análisis, Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Ed. UNAM. México. 193p.

- Mota, G. D. A.** 2002. Evaluación de la Calidad Física y Fisiológica de Tres genotipos de Papaya (*Carica papaya* L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. México.
- Muñoz, S., Rodríguez, N.N. y Lima, H.** 1983. Efecto de un regulador del crecimiento y un bioestimulante en la germinación de semillas de C. Papaya cv. "Maradol". *Agrotecnia de Cuba*. 15 (2): 31-43.
- Neumann F. K.** 2001 Serie Agronegocios: Frutales Tropicales y Subtropicales. Centro de Estudios Agropecuarios. Ed. Grupo Editorial Iberoamérica. México. 110 p.
- Obledo, N.** 2002. Factores que influyen en el comportamiento *in vitro* de *Carica papaya* L. Variedad Maradol. Tesis de Doctorado. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara.
- Peretti, A.** 1994. Manual para Análisis de Semillas. Ed. Hemisferio Sur. Uruguay. pp 21, 57 – 68.
- Pérez – Escalona, M.Y.** 1997. Ácido Acetilsalicílico como Inhibidor de la Germinación Durante el Osmocondicionamiento de las Semillas. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara.
- Pérez, H. P. y Acosta, G. J. A.** 2002. Permeabilidad de la testa y la porción micrópilo –hilio en semillas de frijol silvestre y cultivado. *Fitotecnia Mexicana* 25(1): 57 63.
- Pohlan, J., Collazos, M. E. y Coss, R.M.** 2001. El cultivo orgánico de la papaya (*Carica papaya* L.). *En: Polhan, J. (ed) La Fruticultura Orgánica en el Cauca, Colombia – Un Manual para el Campesinado*. Ed. Shaker Verlag Aachon. Alemania. pp: 175-189.
- Quer, F.** 1978. Botánica Pintoresca. Ed. Ramón Sopena, S. A. España. 532p.
- Rodríguez, P. J. F.** 2000. Producción de semilla balanceada y parámetros relacionados con productividad en plantas de papaya (*Carica papaya* L) tipo cera. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. pp. 9 – 10.
- Rojas. G. M. y Ramírez, R. H.** 1987. Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas. Ed. Limusa. México. pp. 101 – 111.
- Salisbury, F.B. y Ross, C.W.** 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamérica. pp. 547 –548.
- Samarah. N.H., Allataifeh, N., Turk, M.A. y Tawaha, A. M.** (2004). Seed germination and dormancy of fresh and air – dried seeds of common vetch (*Vicia sativa* L.) harvested at different satages of maturity. *Seed Sci. & technol.* (32): 11-19.
- Samson, J.A.** 1991. Fruticultura Tropical. Ed. Limusa. México. pp 305 – 319.

Semilla del Caribe. Av. Mariano Otero # 3433 P. Baja Col. Verde Valle C.P. 45060 Guadalajara, Jal. E-mail carisem@gdl.icanet.net.mx. Disponible en <http://www.Semilladelcaribe.com.mx> consultado en marzo del 2002.

Shie, C. H y Kuo w.H.J. 1999. tetrazolium Test for the Seed of Carica papaya L. Seed and Nursery. Taiwan. 1: 47 – 56. Disponible en <http://seed.agron.ntu.edu.tw/publication/papaya2.htm> Consultado el 27 de febrero del 2002.

Sintes, J.P. 1974. La fruta: Manantial de Salud y Belleza. Ed. Sintes. S.A. España. pp:

Steiner, A. M., Kruse, M. Fuchs, H. 1999. A re – assessment of the comparison of tetrazolium viability testing germination testing. Seed Sci. & Technol., 27, 59 – 65.

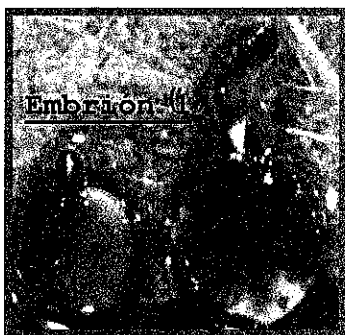
Tejada, I. 1985. Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal. Publicado por el Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México, A.C. pp: 21-27.

Vásquez, Y.C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M.E. y Cervantes, V. 1997. La reproducción de las plantas: semillas y meristemas. Ed. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. pp. 83 y 176.

Wilson, C. L., Loomis, W. E. 1968. Botánica. Ed. Hispanoamericana. México. pp. 329 –337.

Zorato, M. de F. (2001) Tetrazolio: nuevos usos. Seednews 5 (3): 29.

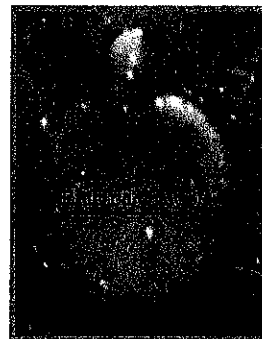
7. ANEXO 1



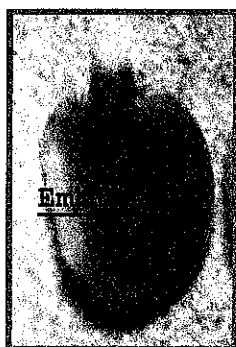
Viabile



Viabile



Viabile



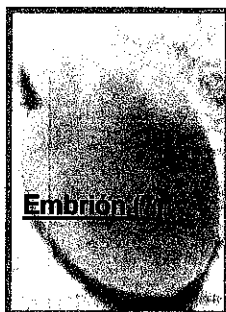
No viable



No viable



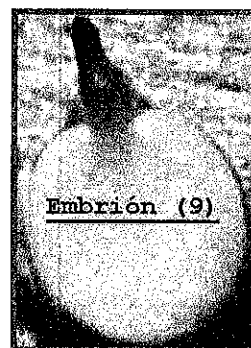
No viable



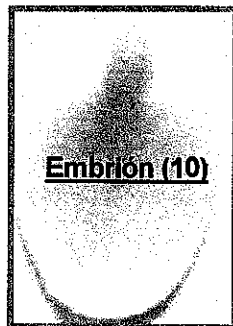
No Viable



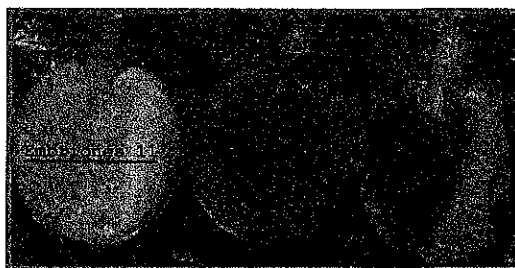
No Viable



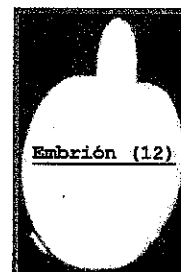
No viable



No viable

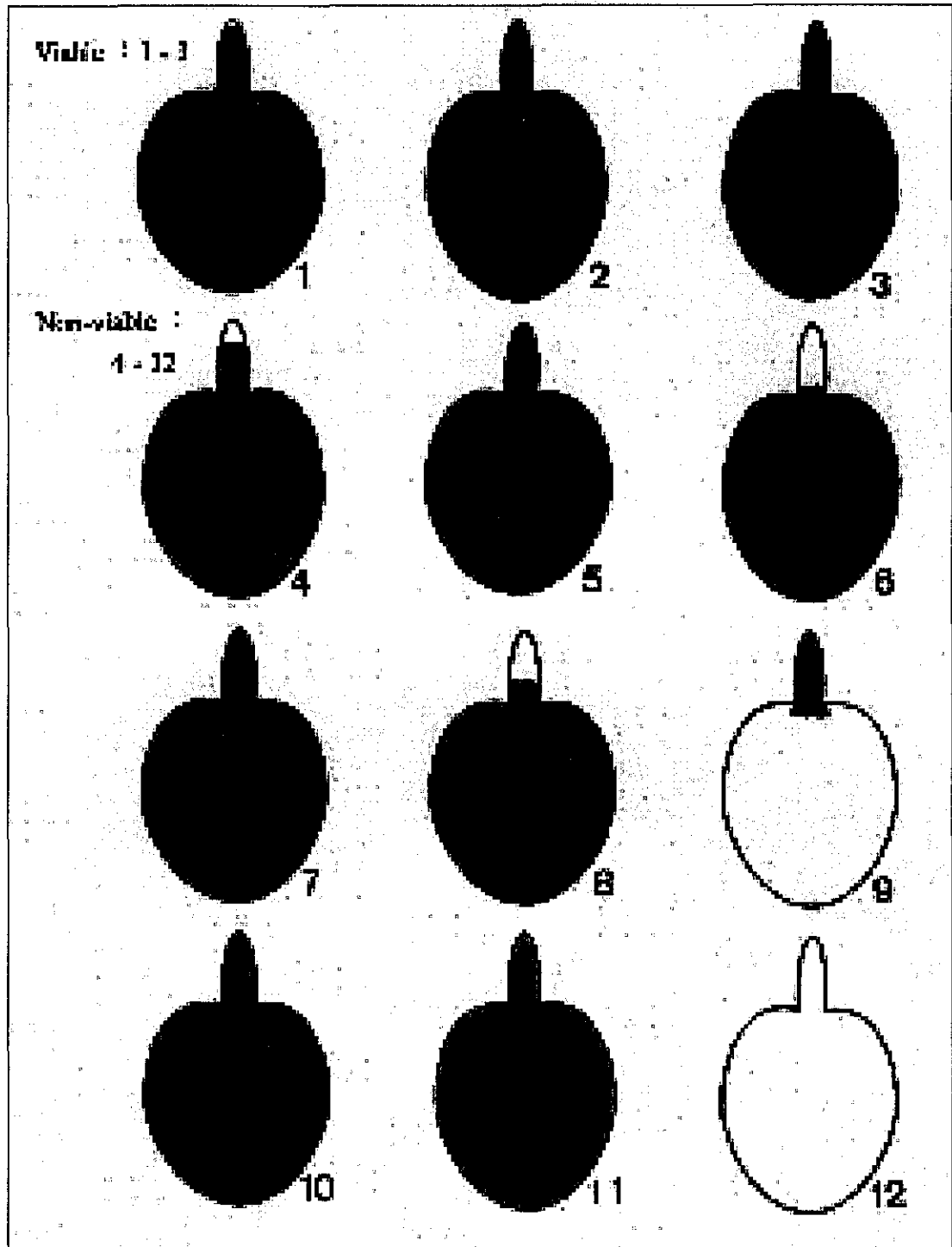


No viable



No viable

7. ANEXO 2



Doce patrones de coloración del embrión de *Carica papaya* L. propuestos por Shie y Kuo, 1999. Solamente los patrones 1, 2, y 3 son considerados como viables.

Se describe el análisis topográfico:

1. Embrión teñido de rojo completamente.
2. Parte basal de la radícula teñida de color rojo claro, y el resto del embrión teñido de rojo.
3. La mitad distal de los cotiledones teñida de color rojo claro, y el resto teñido de rojo, incluyendo al menos 1/3 parte de la punta de la radícula no ha sido teñida o coloreada.
4. Más de 1/3 parte de la punta radícula no es coloreada.
5. Cotiledones coloreados con apariencia de rojo vítreo.
6. Radícula sin colorear.
7. Embrión completo teñido de rojo con un color rojo opaco.
8. Más de 1/3 parte de la punta de la raíz sin colorear y el resto del embrión con una coloración de apariencia vítrea.
9. Cotiledones sin color.
10. Parte basal tanto de la radícula como de los cotiledones son teñidos con un rojo claro.
11. Embrión completamente teñido de color rojo claro
12. Embrión completo sin color.